Aus der Medizinischen Forschung
der
Schering AG - Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. M. Kramer

ANALYSE DER PHARMAKOKINETIK VON GLYCODIAZIN, SULFAMETHOXYDIAZIN UND PHENAZOPYRIDIN AM HUND MIT HILFE EINES ANALOGCOMPUTERS

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Uwe Baer
aus Zwickau/Sa.

1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546510_0018

Aus der Medizinischen Forschung

der

Schering AG - Berlin

Direktor: Prof. Dr. med. M. Kramer

A N A L Y S E D E R P H A R M A K O K I N E T I K V O N G L Y C O D I A Z I N , S U L F A M E T H - O X Y D I A Z I N U N D P H E N A Z O P Y R I D I N A M H U N D M I T H I L F E E I N E S A N A L O G C O M P U T E R S

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Uwe B a e r

aus Zwickau/Sa.

Dekan : Prof. Dr. med. Herbert Lax

Referent : Prof. Dr. med. Martin Kramer

Korreferent : Prof. Dr. med. Helmut Kewitz

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 5. 5. 1970

1.	Einleitung	3
	Pharmakokinetische Untersuchungen mit Hilfe der Isotopenmethode	
2.	Material und Methoden	5
2.1.	Versuchssubstanzen	5
2.2.	Tiermaterial	6
2.3.	Versuchsausführung	6
2.3.1.	Applikation	6
2.3.2.	Blutentnahmen und Harngewinnung	6
2.3.3.	Prüfung der Abatmung von Aktivität bei Anwendung von ^{3}H-markiertem Phenazopyridin	7
2.3.4.	Durchführung der Laparotomie	7
2.3.5.	Trennung der Organe	8
2.4.	Aufarbeitung der Versuchsproben	9
2.5.	Messung der Radioaktivität	10
2.6.	Prüfung des durch die Trocknung der Versuchsproben auftretenden Aktivitätsverlustes bei Verwendung von Phenazopyridin-^{3}H	12
2.7.	Rechnerische Auswertung	12
3.	Ergebnisse	13
3.1.	Glycodiazin	13
3.2.	Sulfamethoxydiazin	19
3.3.	Phenazopyridin	23
4.	Simulierung der Kinetik von Redul und Durenat im Analogcomputer	31
4.1.	Modellentwurf	31
4.2.	Durchführung der Simulierung	32

4.3.	Ergebnisse der Simulierung	37
5.	Diskussion	42
5.1.	Glycodiazin	42
5.2.	Sulfamethoxydiazin	45
5.3.	Phenazopyridin	47
5.4.	Computersimulierung	49
6.	Zusammenfassung	52
7.	Anhang	54
7.1.	Substanzen	54
7.1.1.	Glycodiazin	54
7.1.2.	Sulfamethoxydiazin	56
7.1.3.	Pyridium	58
7.2.	Literaturverzeichnis	59

1. Einleitung

Unter Pharmakokinetik versteht man die quantitative Auseinandersetzung zwischen Organismus und einverleibtem Pharmakon (DOST). Zur Beschreibung der Kinetik eines Wirkstoffes können Blut und Ausscheidungsmedien untersucht werden. Der Tierversuch erlaubt nach Tötung zusätzlich, die Konzentrationen in verschiedenen Geweben zu bestimmen, und es ist möglich, eine genaue Bilanz zu erheben. Die Befunde über Resorption, Verteilung und Elimination geben dem Pharmakologen und Kliniker Aufschluß über die Blut- und Gewebekonzentrationen in Abhängigkeit von Applikationsform und - intervall von Medikamenten.

Zum Nachweis eines verabfolgten Stoffes eignet sich sehr gut die Markierung mit radioaktiven Isotopen. Diese Nachweismethode bietet den Vorzug, daß noch kleinste Mengen nachgewiesen werden können und daß sich radioaktiv markierte Substanzen in ihrem biochemischen Verhalten im Organismus nicht von unmarkierten unterscheiden. Eine Aussage darüber, ob das Molekül im Körper irgendwelchen Veränderungen unterliegt, ist nur mit zusätzlichen chemischen Methoden möglich.

Die Informationen, die aus pharmakokinetischen Untersuchungen resultieren, ermöglichen eine mathematische Beschreibung der zugrundeliegenden Reaktionsvorgänge.

Modellhaft läßt sich der Organismus als System von Kompartimenten auffassen, zwischen welchen Verteilungsvorgänge der zugeführten Substanzen stattfinden (GARRET et al. 1960). Diese Zu- und Abnahme der Substanzmengen in Abhängigkeit von der Zeit in den jeweiligen Kompartimenten läßt sich als ein System von Differentialgleichungen formulieren. Für den

Uebertritt einer Substanz von einem beliebigen Kompartiment I in ein beliebiges Kompartiment II gilt die Beziehung

$$\frac{d\,A}{d\,t} = k_x\, B \,.$$

Hierin bedeuten A und B die zur Zeit t in den betrachteten Kompartimenten befindliche Substanzmenge. K_x stellt die den Verteilungsvorgang charakterisierende Geschwindigkeitskonstante dar.

Zur Lösung derartiger Differentialgleichungen ist der elektronische Analogrechner ein sehr gut geeignetes Instrument.
Hierin ist ein besonderer Vorteil des Analogcomputers in dem Sachverhalt zu sehen, daß mit seiner Hilfe die Beziehungen zwischen den simultan ablaufenden Verteilungsvorgängen veranschaulicht werden können.

Ziel der vorliegenden Arbeit soll die Beschreibung der Pharmakokinetik von Glycodiazin,+) Sulfamethoxydiazin und Phenazopyridin und deren Simulierung im Analogcomputer sein.

+) Glycodiazin : Redul = WZ Bayer/Schering
Sulfamethoxydiazin : Durenat = WZ Bayer/Schering
Phenazopyridin = Pyridium, Mallophene

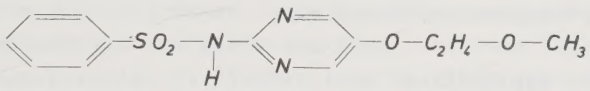
Pharmakokinetische Untersuchungen mit Hilfe der Radioisotopenmethode

2. Material und Methoden

2.1. Versuchssubstanzen

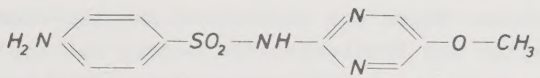
Folgende Substanzen wurden untersucht:

a) Glycodiazin — 2-Benzolsulfonamido-5-(β-methoxy-äthoxy)-pyrimidin



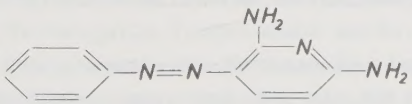
Spez.-Akt.: 49,6 mc/mMol = 160,5 µc/mg

b) Sulfamethoxydiazin — 2-Sulfanilsäureamid-N^1-5-methoxy-pyrimidin



Spez.-Akt.: 8,63 mc/mMol = 30,8 µc/mg

c) Phenazopyridin — 2.6-Diamino-3-phenylazopyridin



Spez.-Akt.: 747 µc/mMol = 3,46 µc/mg

Die radioaktive Markierung wurde

a) beim Glycodiazinvermittels ^3H im Benzolring
b) beim Sulfamethoxydiazin durch ^{35}S und
c) beim Phenazopyridin wiederum mit ^3H an C 4/5 vorgenommen[+].

[+] Die Markierung erfolgte Durch Dr.P.E.Schulze - Hauptlaboratorium der Schering AG - Berlin

2.2. Tiermaterial

Als Versuchstiere wurden männliche und weibliche Hunde der Beaglerasse verwandt. Die Zuordnung der männlichen und weiblichen Tiere zu den Versuchen erfolgte willkürlich, ihr Körpergewicht lag zwischen 6 kg und 13,5 kg.

2.3. Versuchsausführung

2.3.1. Applikation

Alle Versuchssubstanzen wurden intravenös in einer Dosierung von 10 mg pro kg Körpergewicht verabreicht. Das Injektionsvolumen der Lösungen von Glycodiazin und Sulfamethoxydiazin war 5 ml, die Injektionszeit betrug 10 Sekunden. Wegen der besonderen physiko-chemischen Eigenschaften von Phenazopyridin betrug das Applikationsvolumen 20 ml und die Injektionszeit 1 Minute.

2.3.2. Blutentnahmen und Harngewinnung

Die Blutentnahmen zur Bestimmung des peripheren Blutspiegels erfolgten aus der vena cephalica oder aus der vena saphena. Die Extremität, an welcher die Injektion vorgenommen worden war, wurde nicht zur Entnahme benutzt.

Jeweils 2 ml Blut wurden entnommen. Sie wurden zur Gerinnungshemmung sofort mit 1 Tropfen 1 %iger Heparinlösung versetzt.

Den Hunden wurde ein Harnblasenkatheter gelegt (Nelatonkatheter Größe 6 bis 8). Die Harnmengen wurden durch Umsetzen der Sammelgefäße fraktioniert gewonnen. Die Harnblase wurde nach jedem Umsetzen der Gefäße mit 20 ml

steriler physiologischer Kochsalzlösung gespült, die Spülflüssigkeit der entsprechenden Harnportion zugefügt.

2.3.3. Prüfung der Abatmung von Aktivität bei Anwendung von ^{3}H-markiertem Phenazopyridin

Zur Prüfung der Ausscheidung von Pyridium oder seiner Metabolite über die Lunge wurde das Wasser der Ausatmungsluft absorbiert. Dazu wurde das Tier, nach der Injektion von Phenazopyridin, 24 Stunden lang in einem ventilierten Exhalationskäfig gehalten. Die Abatmungsluft wurde durch vier hintereinandergeschaltete Waschflaschen mit gekühltem Methanol (-18°C) geführt. Nach 24 Stunden wurde die Radioaktivität des Methanol-Wasser-Gemisches gemessen.

2.3.4- Durchführung der Laparotomie

Die Tiere, bei denen die Ausscheidung der Substanzen in die Galle und die Substanzmenge im Portalvenenblut bestimmt, sowie der Hund, bei dem eine intraduodenale Instillation der Fistelgalle vorgenommen wurde, wurden laparotomiert. Die Tiere waren vom Vortage der Operation an nüchtern, als Vorbereitung erhielten sie am Vorabend 25 mg Atosil i.m. und etwa 30 Minuten vor Operationsbeginn noch einmal 25 mg Atosil sowie 0,25 mg Atropin i.m.

Die Operationen erfolgten in Hexobarbital-Na-Norkose, bei Spontanatmung (initial wurden etwa 30 mg Hexobarbital pro kg Körpergewicht i.v. injiziert, bei Bedarf wurden später 100 bis 150 mg nachgegeben). Postoperativ erhielten die Hunde Infusionen von Ringerlösung und 5 % iger Glukoselösung (jeweils 500 ml innerhalb von 24 Stunden). Zur Schmerzbekämpfung wurde Methadon gegeben.

Zur Anlage der Gallenfistel wurde den Tieren nach

Rippenbogenrandschnitt rechts und Eröffnung des Peritoneums möglichst nah der papilla vateri ein Polyäthylenschlauch (Größe 4) in den ductus choledochus eingebunden, derselbe mehrfach fixiert und nach außen geführt. Der Galleflu$ war kontinuierlich und die Fraktionierung der Galle erfolgte durch Umsetzen der Sammelgefäße.

Den Gallefistelhunden wurde außerdem noch ein Pfortaderkatheter gelegt. Dabei wurde von einer Mesenterialvene mittleren Kalibers aus ein Kunststoffschlauch bis in den Hauptstamm der vena portae vorgeschoben, dort fixiert und nach außen geleitet. Der Katheter wurde mit 1 % iger Heparinlösung gefüllt und abgeklemmt. Bei jeweils einem Hund jeder Versuchsserie wurde ein Pfortaderkatheter auch ohne vorherige Anlage einer Gallenfistel gelegt. (Die Heparinlösung wurde jeweils vor der Blutentnahme, welche simultan zur Abnahme an der peripheren Vene erfolgte, abgezogen und mit dem ersten ml Blut verworfen. Nach der Entnahme wurde der Schlauch erneut mit Heparinlösung gefüllt).

2.3.5. Trennung der Organe

Verschiedene Zeit nach Applikation der Substanzen wurden die Tiere durch hinreichende Dosen Pentobarbital-Na i.v. getötet und seziert.

Thorax- und Abdominalorgane, ZNS und Hoden (Ovar) sowie die endokrinen Organe Nebennieren und Schilddrüse wurden getrennt. Ebenso wurden Teile der Muskulatur (Oberschenkel), des Knochens (Femur) und des Felles (Rücken) entnommen. Zur Bestimmung der auf diese Organteile entfallenden Aktivitäten wurde auf ein durchschnittlich angenommenes Organgewicht bezogen.

Nach MILLER, CHRISTENSEN und ABBOT (1964) entfallen auf die Muskulatur des Hundes 33 bis 50 % und auf das Fell

12 % des Körpergewichtes. Nach BAUM- ZIETSCHMANN (1936) liegt der Anteil der Knochen am Körpergewicht zwischen 15 und 20 %. Die Menge des Blutes entspricht etwa 8 % der Gesamtkörpermasse).

Wir bezogen das Gewicht der Gewebeteile auf einen mittleren Wert von 42 % bei der Muskulatur, auf 12 % beim Fell, 15 % bei den Knochen und 8 % beim Blut.

2.4. Aufarbeitung der Versuchsproben

Um die in den verschiedenen Organen, in Blut, Harn und im Kot vorhandene Radioaktivität messen zu können, wurden die Versuchsproben wie folgt aufgearbeitet.

Von den bei jeder Entnahme erhaltenen 2 ml Blut wurden dreimal 0,5 ml in kollodierte Filterpapiertütchen (in Kegelform gepreßtes aschefrei verbrennendes Selecta-Rundfilterpapier, Durchmesser 3,5 cm, Nr. 1507 Schleicher-Schüll, welches zur Erreichung der Wasserdichte mehrmals mit Kollodium imprägniert worden war) einpipettiert. Gallen- und Harnmengen wurden gemessen oder auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt. Auch hier wurden von jeder Fraktion dreimal 0,5 ml in kollodierte Filterpapiertütchen einpipettiert. Die Proben wurden anschließend, ebenso wie die Blutproben, im Trockenschrank über zwei Tage getrocknet. Das Feuchtgewicht von Organen und Faeces wurde bestimmt, diese wurden in einer automatischen Gefriertrocknungsanlage (Phywe-WKF, Typ L 5) über zwei Tage lyophilisiert, erneut gewogen und anschließend mechanisch homogenisiert. Dreimal 50 mg der homogenisierten Organtrockensubstanz jedes Organes wurden in nicht kollodierte Filterpapiertütchen eingewogen (Digitalanalysenwaage, Meßgenauigkeit $\pm$ 0,1 mg). Sehr fettreiche Gewebe wurden zur Erzielung einer rußfreien Verbrennung mehrmals mit Toluol extrahiert. Der Toluolextrakt wurde gesondert gemessen, die Organrestsubstanz wie oben beschrie-

ben verarbeitet.

Die Meßproben wurden anschließend in Sauerstoffatmosphäre am Palladiumdraht im 1-Liter-Erlenmeyerkolben (Schott und Genossen 20, NS 29/32) verbrannt. Zur Absorption von ^{3}HOH diente eine Vorlage von 20 ml Methanol. ^{35}S wurde als $^{35}SO_2$ in methanolischem Aethanolamin (540 ml im Vakuum destilliertes Aethanolamin und 4500 ml Methanol) aufgefangen. Die Absorptionszeit für ^{3}HOH betrug eine, für $^{35}SO_2$ zwei Stunden.

2.5. Messung der Radioaktivität

Als flüssiger Szintillator wurde eine Lösung von 250 mg (1.4.-Bis-(5-phenyloxazolyl-(2))-benzol) und 20 g Terphenyl (1.4-Diphenyl-benzol) in 5 l Toluol verwandt. Die Absorptionsflüssigkeiten wurden nach erfolgter Absorption von ^{3}HOH bzw. $^{35}SO_2$ dieser Szintillatorflüssigkeit im Verhältnis 3:1 zugesetzt.

Als Meßgeräte dienten Tri-Carb-Liquid Scintillation Spectrometer der Firma Packard Instruments Company Inc., La Grange, Illinois, USA. Es wurden die Modelle 314 EX, 3314, 3310 verwandt.
Meßparameter:

a) 314 EX (2 Kanäle)

	Tritium	^{35}S
Impulshöhenanalyse	A 90 keV	C 110 keV
	B 780 keV	D 1000 keV
Gain	1000 %	200 %
Leerwert	43 imp/min.	25 imp/min.
Zahl der zufälligen Koinz.	8-10 /min.	8-10 /min.

b) Mod. 3314 (3 Kanäle, zwei benutzt)

	Tritium	^{35}S
Impulshöhenanalyse	A 50 keV	E 50 keV
	B 500 keV	F 1000 keV
Gain	21 %	6,2 %
Leerwert	29 imp/min.	32 imp/min.
Zahl der zufälligen Koinz.	4/min.	4/min.

c) Mod. 3310 (3 Kanäle, zwei benutzt)

	Tritium	^{35}S
Impulshöhenanalyse	A 60 keV	E 60 keV
	B 480 keV	F 1000 keV
Gain	32 %	8 %
Leerwert	32 imp/min.	30 imp/min.
Zahl der zufälligen Koinz.	3/min.	3/min.

Die Meßzeit betrug bei Galle und Harn zwei oder drei Minuten (je nach Counter-Modell), bei Blut, Organen und Kot 10 Minuten. Jede Messung wurde mehrmals wiederholt. Der Toluolextrakt wurde direkt gemessen.

Um den Meßwert mit der applizierten Menge in Beziehung zu setzen, wurden bei jeder Meßreihe Standards simultan gemessen. Als Standard diente ein aliquoter Teil der Verbindung. Zur Bestimmung der Meßgenauigkeit wurden Leerwerte analysiert: Analog den Meßproben wurden Blut, Galle, Harn und Gewebe nicht vorbehandelter Tiere aufgearbeitet und deren Radioaktivität gemessen.

2.6. Prüfung des durch die Trocknung der Versuchsproben auftretenden Aktivitätsverlustes bei Verwendung von Phenazopy ridin-^{3}H

Um zu prüfen, ob bei der Aufarbeitung (mit Verbrennung und vorheriger Trocknung der Versuchsproben, nach Applikation von Phenazopy ridin-^{3}H) Radioaktivitätsverluste auftreten, wurden zweimal 10 ml des 24-Stunden-Harnes von Hund 13 in Kristallisierschalen pipettiert und gefriergetrocknet (Verlust des Wassers). Nach der Gefriertrocknung wurde wieder auf das Ausgangsvolumen aufgefüllt. Von diesen Lösungen wurden jeweils 0,5 ml in Sechsfachbestimmung zu 19,5 ml wasserlöslichem Szintillator zugefügt. Dann wurden 6 mal 0,5 ml des unbehandelten 24-Stunden-Harnes desselben Tieres ebenfalls zu 19,5 ml wasserlöslichem Szintillator pipettiert. Anschließend wurde die Radioaktivität beider Lösungen miteinander verglichen.

2.7. Rechnerische Auswertung

Die Meßergebnisse wurden in % der Eingabe mitgeteilt. Bei Blut und den verschiedenen Geweben wurde darüber hinaus auf ein Aliquotes berechnet, um die Radioaktivität in den verschiedenen Organen und Geweben sehr unterschiedlicher Gewichte miteinander vergleichen zu können.

Der Wiederfindungswert ergab sich als Summe aller Ausscheidungsmengen und der zum Zeitpunkt der Tötung und Aufarbeitung im Körper vorhandenen Menge des Pharmakon.

Bei einer Dimension von (ml/g) wird das relative Verteilungsvolumen nach DOST wie folgt bestimmt:

$$\text{Relatives Verteilungsvolumen} = \frac{\text{Applizierte Dosis in mg}}{\text{z.Zt. Null extrapolierte Blutkonzentration x Körpergewicht in g}}$$

3. Ergebnisse

3.1. Glycodiazin

Nach intravenöser Injektion von 10 mg/kg Körpergewicht Glycodiazin erhielt man im peripheren Venenblut und in der vena portae die in der Tabelle 1 ausgewiesenen Blutkonzentrationen. Die Konzentration ist angegeben in % der Eingabe in 100 ml. Im peripheren Venenblut konnte aus methodischen Gründen nur in zwei Fällen die Konzentration schon 1 Minute nach Injektion bestimmt werden. Sie betrug 2,4 % und 6,4 % der Eingabe/100 ml. 10 Minuten nach Injektion differierten die Konzentrationen zwischen 1,7 % und 2,6 % der Eingabe pro 100 ml. Nach 1 Stunde wurden Konzentrationen zwischen 1,5 und 2,2 % d.E./100 ml nachgewiesen. Nach 8 Stunden schließlich lagen die Konzentrationen zwischen 0,7 % und 1,8 % d.E./100 ml. Bezogen auf das Einzelindividuum war die Blutkonzentration nach 1 Stunde gegenüber dem Wert nach 6 Minuten um 31 %, 16 %, 27 % und 20 % abgefallen. Die 6 Stunden nach Injektionsende im Blut erhaltenen Werte betrugen gegenüber den nach 6 Minuten gefundenen noch 42 %, 53 %, 35 % und 73 %.

Im Portalvenenblut wurden dem peripheren Blutspiegel vergleichbare Konzentrationen erhalten. Die Drainierung der Galle hat keine meßbaren Konzentrationsänderungen gegenüber

den bei ungestörem Gallenfluß erhaltenen zur Folge. Weitereie Einzelheiten siehe Tabelle 1.

Tabelle 1

^{3}H-Konzentration im peripheren Venenblut und im Blut der vena portae nach i.v.-Injektion von 10 mg/kg Glycodiazin-^{3}H. Angaben in % der Eingabe pro 100 ml.
A = Versuchstiere mit, B = ohne Gallendrainage

Abnahmezeit (Min. oder Stunden)	A				B		
	periph.Vene		Portalvene		periph.Vene		V.P.
	H 2	H 5	H 2	H 5	H 1	H 4	H 4
1 Min		2,40		2,34		6,38	
2 "		2,13	2,83	2,31	3,07	3,67	
4 "		1,96	2,53	2,29	2,86	3,44	
6 "	2,01	1,75	2,31	1,75	2,75	2,72	2,74
10 "	1,95	1,70	2,09	1,81	2,47	2,58	2,93
15 "	1,70	1,67		1,70	2,21	2,42	2,74
17 "			1,89				
30 "	1,74	1,65		1,68	2,36	2,14	2,49
45 "	1,67	1,56		1,66	2,36		2,37
48 "	1,56		1,54				
60 "	1,58	1,48	1,55	1,59	2,04	2,22	2,21
90 "	1,36	1,50	1,57	1,51	2,06	2,26	2,32
120 "	1,48	1,27	1,59	1,38		2,26	2,20
130 "					1,83		
3 Std	1,25	1,36	1,15	1,28	1,60	2,31	2,29
4 "	0,94	1,17	0,94	1,12	1,38	2,07	2,18
5 "	0,96	1,10	0,90	1,02	1,17	1,88	1,89
6 "	0,85	0,93	0,82	0,82	0,96	1,98	1,86
7 "	0,81	0,80	0,76	0,68	0,83	1,75	1,75
8 "	0,72	0,74	0,65	0,68	0,65	1,79	1,84
12 "	0,36	0,57	0,35	0,42		1,63	1,76
19 "		0,35		0,30		1,46	1,51
24 "	0,16	0,27	0,15	0,26			

Das relative Verteilungsvolumen (nach DOST) von Glycodiazin lag zwischen 0,45 und 0,75 ml/g (Durchschnitt 0,55 ml/g)

Von der insgesamt eliminierten Menge wurde der überwiegende Anteil über die Nieren ausgeschieden (Tab. 2). Innerhalb von 8 Stunden war in 2 von 3 untersuchten Fällen über die Hälfte der Substanz mit dem Urin ausgeschieden worden. Bei einem über 24 Stunden untersuchten Tier war die Gesamtelimination über die Nieren rund 80 %.

Tabelle 2

^{3}H-Elimination im Urin nach i.v. Applikation von 10 mg/kg Glycodiazin-^{3}H an Hunden. In % der Eingabe

Zeit in Stunden	H 1 additiv	H 2 additiv	H 5 additiv
1	5,22	1,95	
2	15,19	14,63	2,10
3	22,41	24,99	8,35
4	31,42	33,83	16,88
5	39,21	37,85	27,21
6	46,42	41,72	34,65
7	51,16	45,91	38,42
8	54,20	49,80	41,62
12		65,95	50,81
24		79,28	

Die Wiederfindung in der Fistelgalle war gering. Bis zur 8. Stunde post applicationem wurden zwischen 2,5 % und 7 % und über 24 Stunden 4,4 % bzw. 9 % der eingegebenen Menge ausgeschieden (Tab. 3).

Tabelle 3

^{3}H-Elimination in der Fistelgalle nach i.v.-Injektion von 10 mg/kg Glycodiazin-^{3}H an Hunden. In % der Eingabe.

Zeit in Stunden	Hund 2 additiv	Hund 5 additiv
1	0,42	0,01
2	1,12	0,14
3	1,70	3,34
4	1,91	4,68
5	2,17	5,59
6	2,35	6,25
7	2,48	6,76
8	2,51	6,96
12	2,54	8,13
24	4,37	8,69

Die Möglichkeit einer Resorption der in die Galle ausgeschiedenen Substanz wurde derart untersucht, daß die 24-Stunden-Galle des Hundes 2 einem Empfängertier intraduodenal verabreicht wurde. Dabei wurde die Gesamt-Radioaktivität der Spendergalle gleich 100 % gesetzt. Nach 30 Minuten wurde im peripheren Venenblut eine Maximalkonzentration von 3,7 % der Eingabe pro 100 ml nachgewiesen. Das entspräche bezogen auf das Gesamtblut, daß zu diesen Zeitpunkt 18 % der in der Spendergalle befindlichen Glycodiazin-^{3}H-Radioaktivität im gesamten Blutraum vorlag (Tab. 4).

Tabelle 4

^{3}H-Bestimmung im peripheren Venenblut eines Empfängertieres nach intraduodenaler Instillation einer 24-Stunden Fistelgalle eines Spendertieres, welches 10 mg/kg Glycodaizin-^{3}H i.v. erhalten hatte. In % der Eingabe.

Z e i t	% der Eingabe pro 100 ml
30 Min.	3,74
60 "	2,78
90 "	1,78
2 Std.	1,91
3 "	1,31
4 "	1,91
5 "	2,34
6 "	0,59
7 "	0,96
8 "	0,89
24 "	1,85

Die Verteilung von ^{3}H-Glycodiazin wurde 8 Stunden nach Applikation untersucht. Seine Konzentration war in den Ausscheidungsorganen am größten. In der gefüllten Gallenblase waren 3,4 % der Eingabe pro 100 g vorhanden. Die nächsthöhere Konzentration wurde im Intestinaltrakt mit 1,5 % pro 100 g gefunden. Von den übrigen untersuchten Geweben wurde die höchste Konzentration (1,4 %/100 g) in der Haut nachgewiesen. Eine Umrechnung der Wiederfindung auf das Gesamtorgan Haut ergibt 12 %. Die Konzentration in den übrigen Geweben lag zwischen 0,2 %/100 g und 0,7 %/100 g.

Von den endokrinen Organen wurden in der Schilddrüse un in den Nebennieren mit 0,7 %/100g die höchste Anreicherung gemessen.

Die Wiederfindung über Elimination und Verteilungsraum betrug 98 % (Tab. 5).

Tabelle 5

^{3}H-Wiederfindung in den Organen eines Hundes 8 Stunden nach i.v.-Gabe von 10 mg/kg Glycodiazin-^{3}H. In % der Eingabe/Organ und in % der Eingabe pro 100 g Feuchtgewicht.

Organe	Feuchtgewicht in g	Prozent der Eingabe im Organ	% d.E. pro 100 g Feuchtgew.
Haut	5,5 / 900	0,075/12,27	1,36
Thymus	21,6	0,09	0,33
Netz, Gekröse	146,9	0,85	0,58
Nierenfett	31,4	0,20	0,63
Schilddrüse	0,7	0,01	0,71
Hoden	3,2	0,02	0,53
Nebenniere	1,0	0,01	0,70
Pankreas	27,8	0,09	0,31
Milz	13,3	0,02	0,32
Lunge	67,7	0,31	0,46
Herz	44,4	0,18	0,41
Hirn	81,6	0,16	0,20
Muskel	36,6 /3200	0,13/11,84	0,37
Leber	294,8	2,36	0,80
Gallenblase	13,2	0,44	3,35
MDK (mit Inh.)	504,6	7,67	1,52
Nieren	51,9	0,56	1,09
Blut	600,0	3,90	0,65

3.2. Sulfamethoxydiazin

Nach Injektion von 10 mg/kg Sulfamethoxydiazin-^{35}S erzielte man die in Tab. 6 beschriebenen Blutspiegel. 10 Min. nach der Applikation war die Konzentration im peripheren Venenblut gegenüber dem Einminutenwert um 57 % (42 % bzw. 51 %) abgefallen. 1 Stunde p.inj. betrug die Konzentration noch 42 % (19 % bzw. 37 %) vom Einminutenwert. 6 Stunden nach Abschluß der Injektion war die Konzentration im Blut der periphen Vene auf 18 % (15 % bzw. 19 %) des nach einer Minute gefundenen Wertes abgesunken. Die in der vena portae nachgewiesenen Konzentrationen entsprachen den im peripheren Blut.

Tabelle 6

^{35}S-Konzentration im peripheren Venenblut und in der vena portae nach i.v.-Applikation von 10 mg/kg Sulfamethoxydiazin-^{35}S. In % der Eingabe.

Zeit	O. Galle	Mit Gallendrainage		
	per.Vene	per.Vene		V.portae
	H 6	H 7	H 8	H 8
1 Min.	5,07	9,88	4,25	5,43
2 "	3,26	4,83	3,76	4,73
4 "	2,48	4,32	2,96	3,96
10 "	2,36	3,80	2,10	3,34
30 "	2,14	2,30	1,40	1,69
1 Std.	2,15	1,85	1,33	1,58
2 "	1,91	1,76	1,31	1,20
3 "	1,57	1,85	1,26	0,96
4 "	1,32	1,61	1,00	0,95
5 "	1,22	1,53	0,95	0,87
6 "	0,93	1,48	0,80	0,82
7 "	0,83	1,35	0,71	0,81
8 "	0,72	1,30		0,72
12 "	0,54		0,62	0,65
24 "	0,31			
48 "	0,03			

Von Sulfamethoxydiazin wurde der Hauptanteil über die Nieren eliminiert. Die ^{35}S-Wiederfindung im Urin betrug 8 Stunden post applicationem ein Viertel bis ein Drittel der applizierten Dosis. Nach 24 Stunden waren über den Harn 70 % und nach 48 Stunden 81 % der Eingabe ausgeschieden (Tab. 7).

Tabelle 7

^{35}S-Elimination in Urin und Fistelgalle nach intravenöser Applikation von 10 mg/kg Sulfamethoxy-diazin-^{35}S. In % der Eingabe.

Zeit in Stunden	Urin			Galle	
	H 6	H 7	H 8	H 7	H 8
8		26,8	22,2	1,7	
12	45,5				
14					2,4
24	69,7				
48	81,0				

Die Gallenelimination war gering. Innerhalb von 8 Stunden wurden 1,7 % (Hund Nr. 7) und von 14 Stunden 2,4 % (Hund Nr. 8) der verabreichten Menge an Sulfamethoxydiazin in der Galle ausgeschieden (Tab. 7).

Das relative Verteilungsvolumen nach DOST betrug durchschnittlich 0,54 ml/g (zwischen 0,46 ml/g und 0,66 ml/g).

Die Verteilung in den einzelnen Organen wurde 8, 14 und 48 Stunden nach i.v.-Applikation von 10 mg/kg ^{35}S-Sulfamethoxydiazin untersucht. Zu den verschiedenen Zeiten der Tötung der Versuchstiere wurden die höchsten Konzentrationen jeweils

in den Ausscheidungsorganen Leber und Niere mit den nachgeordneten Organen Gallenblase und Harnblase gefunden. Von den endokrinen Organen war die Konzentration in der Schilddrüse zu allen Untersuchungszeiten am größten. Mit Ausnahme der Ausscheidungsorgane und der endokrinen Organe fiel die Konzentration von der 8. Stunde bis zur 14. Stunde auf 40 % bis 60 % und zwischen 14 und 48 Stunden auf nurmehr 16 % bis 22 %.

In der Schilddrüse wurde als einzigem Organ nach 48 Stunden eine gegenüber dem Achtstundenwert höhere Konzentration erhalten. Die Gewebespiegel in den übrigen Organen waren zu jeder Tötungszeit etwa durchschnittlich.

Die Wiederfindung aus Elimination und Verteilungsraum betrug im Durchschnitt 93 % (Tab. 8).

Tabelle 8

^{35}S-Wiederfindung in den Organen von Hunden 8, 14 und 48 Stunden nach intravenöser Injektion von 10 mg/kg Körpergewicht Sulfamethoxydiazin-^{35}S. In % der Eingabe pro Gesamtorgan und pro 100 g Organfeuchtgewicht

Organe	Hund 7 (8 Std.)			Hund 8 (14 Std.)			Hund 6 (48 Std.)		
	Feucht-gewicht in g	Prozent der Eingabe im Organ	% d.E. in 100 g Feuchtg.	Feucht-gewicht in g	Prozent der Eingabe im Organ	% d.E. in 100 g Feuchtg.	Feucht-gewicht in g	Prozent der Eingabe im Organ	% d.E. in 100 g Feuchtg.
Haut	9,06/1200	0,098/12,97	1,08	5,06/1200	0,031/ 7,32	0,61	9,92/1080	0,010/1,09	0,10
Thymus	12,02	0,100	0,83	7,90	0,023	0,29	8,13	0,003	0,03
Netz	53,07	0,322	0,61				85,94	0,009	0,01
Gekröse	20,63	0,191	0,93	112,09	0,458	0,41	97,73	0,015	0,02
Nierenfett	9,42	0,050	0,53	18,59	0,060	0,32	48,20	0,016	0,03
Schilddrüse	0,85	0,013	1,53	1,17	0,009	0,77	0,42	0,009	2,14
Hoden	20,82	0,194	0,93	20,62	0,130	0,63	11,44	0,012	0,10
Nebenniere	1,76	0,021	1,19	0,87	0,006	0,69	1,41	0,001	0,09
Pankreas	64,50	0,485	0,75	37,43	0,190	0,51	33,00	0,009	0,03
Milz	80,83	0,662	0,82	23,27	0,123	0,53	20,18	0,004	0,02
Lunge	87,67	0,867	1,05	194,47	1,029	0,53	60,26	0,006	0,02
Herz	74,47	0,613	0,82	109,18	0,497	0,45	67,28	0,005	0,07
Hirn	76,92	0,472	0,61	78,68	0,300	0,38	63,56	0,018	0,03
Muskulatur	33,71/4200	0,268/33,39	0,80	25,44/4200	0,129/21,42	0,51	59,02/3780	0,016/0,98	0,03
Zwerchfell	12,53	0,110	0,88	8,35	0,024	0,41	16,78	0,009	0,05
Knochen	9,42/1500	0,011/ 1,74	0,12	9,40/1500	0,028/ 4,50	0,30			
Leber	344,50	4,152	1,21	194,47	2,701	0,72	330,05	0,535	0,16
Gallenblase	3,08	0,117	3,86	6,03	0,104	1,72	4,51	0,047	1,04
MDK (m.Inh.)	521,80	7,761	1,49	558,76	3,662	0,66	437,87	2,384	0,54
Nieren	46,79	0,544	1,16	69,62	0,671	0,96	52,09	0,067	0,13
Harnblase	7,93	0,141	1,78	8,54	0,060	0,70	7,87	0,008	0,11
Blut	800,00	10,400	1,30	800,00	4,960	0,62	720,00	0,230	0,03

3.3. Phenazopyridin

Die Bilanz der pharmakologischen Untersuchungen von Pyridium (intravenöse Applikation von 10 mg/kg Phenazopyridin-^{3}H) war unbefriedigend. Ueber Ausscheidung und Verteilung wurden im Mittel von 4 Versuchen 59 % der Eingabe wiedergefunden. Bei der Bestimmung der Elimination und der Verteilungsgröße werden jedoch im Allgemeinen, unter Berücksichtigung des methodischen Fehlers, die Gesamteingabemengen wiedergefunden. Die Abweichung von 100 % bei der Wiederfindung war bei dieser Versuchsserie derart groß und lag bei allen Versuchen in der gleichen Größenordnung (Wiederfindung zwischen 48 % und 64 %), daß ein methodischer Fehler, gleiche Bedingungen wie bei den vorherigen Versuchsserien waren vorhanden, auszuschließen war.

Es mußte nach einer anderen Ursache des scheinbaren Verlustes gesucht werden.

Der Metabolismus des Pyridium ist noch nicht beschrieben. Es besteht nun einmal die Möglichkeit, daß der Pyridinring, in welchem die ^{3}H-Markierung vorgenommen worden war, aufgespalten und ^{3}H über die Atmungskette zu ^{3}HOH oxidiert wird. Außerdem wäre eine Abspaltung von ^{3}H durch einen Protonenaustausch denkbar. Auch in diesem Fall würde eine Oxidation über die Atmungskette erfolgen. Da jedoch zum Nachweis der Radioaktivität, wie oben beschrieben, alle Versuchsproben zur Verbrennung getrocknet wurden, ging sämtliches Wasser der Gewebe des Urins und des Kotes, mithin auch ^{3}H enthaltendes, verloren. Ueberdies zeigte ein weiterer Versuch, daß über 24 Stunden 1,3 % der eingegebenen ^{3}H-Aktivität in der Ausatmungsluft erscheint. Das Absorptionsmedium für das abgeatmete H_2O war farblos, woraus hervorgeht, daß es sich bei der gefundenen ^{3}H-Radioaktivität nicht um Pyridium selbst gehandelt haben kann, dessen wäßrige Lösung kräftig orangerot gefärbt ist.

Ein Vergleich der Radioaktivität von gefriergetrocknetem Urin auf der einen Seite und nicht der Trocknung unterworfenen Urin auf der anderen ergab, daß der native Harn eine 1,6 mal höhere Radioaktivität enthielt als der der Trocknung unterworfene Harn.

Multipliziert man die bei der Verteilungs- und Eliminationsuntersuchung des ^{3}H-Pyridiums erhaltenen Wiederfindungswerte mit dem Faktor 1,6, der sich aus der unterschiedlichen Bearbeitung des Urins der Hunde, die über 24 Stunden untersucht wurden, ergab, so erhält man Prozentsätze für die Wiederfindung, die sich im Normbereich bewegen (Durchschnitt 90,9 %).

Eine Multiplikation mit dem Faktor 1,6 erscheint uns nur bei den Summen der Ausscheidungen (Harn und Galle) sowie bei den in den Organen und Geweben gefundenen Radioaktivitätsmengen statthaft, da der errechnete Faktor aus dem 24-Stunden - Sammelurin erhalten wurde, somit ein Durchschnittswert war, der einen Bezug auf kürzere Versuchszeiten nicht zuläßt. Bei den folgenden Zahlenangaben wurden daher jeweils die Summen der Gallen- und Harnausscheidungen über die Versuchszeit und die bei der Verteilung (Bilanzierung) der drei über 24 Stunden untersuchten Tiere multipliziert. Eine Multiplikation der Einzelwerte bei Galle, Urin und Blutspiegel wurde nicht durchgeführt.

Bei den Versuchstieren 11 und 12 wurde auf eine Korrektur der Ergebnisse verzichtet, da die Tötung und Aufbereitung der Organe bei diesen Tieren bereits 8 Stunden nach der Injektion erfolgt war.

Die Ergebnisse im Einzelnen:

Nach Injektion von 10 mg/kg Pyridium-^{3}H wurden die in Tab. 9 ausgewiesenen Blutspiegel erhalten. 10 Minuten nach Injektionsende war die Konzentration im peripheren Venenblut auf 65 % (31 %) des Einminutenwertes gefallen. Nach 1 Stunde betrug die Konzentration noch 14 % (63 %) des Einminutenwertes (Hund Nr. 9 u. 12) beziehungsweise 36 % des 3-Minutenwertes von Hund 10. 6 Stunden nach der Applikation war die Konzentration noch 4,5 % (6,4 %) des Wertes von einer Minute und 4,7 % des nach drei Minuten erreichten Wertes bei Tier 10. Die Portalvenenblutspiegel entsprachen zu allen Zeiten den im peripheren Blut erhaltenen, gleichgültig, ob eine Gallendrainage vorgenommen worden war oder der Gallenfluß ungehindert war.

Tabelle 9

^{3}H-Konzentration im peripheren Venenblut und in der vena portae nach intravenöser Injektion von 10 mg/kg Pyridium-^{3}H. In % der Eingabe pro 100 ml

Z e i t	Mit Gallendrainage		Ohne Gallendrainage		
	per.Vene	V.portae	per.Vene		V.portae
	H 9	H 9	H 12	H 10	H 10
1 Min.	1,32	0,88	0,94		1,42
2 "	0,82	0,87	0,68		1,47
3 "				0,64	
4 "	0,61	0,65	0,67		0,99
6 "				0,52	
10 "	0,46	0,50	0,65		0,68
20 "				0,52	
30 "	0,27	0,29	0,65	0,36	0,37
1 Std.	0,19	0,16	0,59	0,23	0,18
2 "	0,14	0,13	0,17	0,10	0,15
3 "	0,14	0,08	0,13	0,05	0,12
4 "	0,10	0,05	0,08	0,11	0,07
5 "	0,09	0,05	0,07	0,09	0,02
6 "	0,06	0,03	0,06	0,03	0,03
7 "	0,07	0,03	0,06	0,07	0,09
8 "	0,05	0,03	0,06	0,03	0,03
12 "	0,03	0,01		0,02	
24 "	0,02	0,01		0,04	0,10

Das relative Verteilungsvolumen (nach DOST) betrug im Durchschnitt 5,0 ml/g (zwischen 4,0 und 6,5 ml/g).

Die Hauptmenge der Substanz wurde über die Galle ausgeschieden. In der Fistelgalle des Hundes 9 fanden sich innerhalb von 24 Stunden 73,3 der Eingabe wieder. Auch bei den Tieren, bei denen der Gallenfluß ungehindert war, fanden sich, nach Tötung der Tiere 24 Stunden nach

Applikation der Versuchssubstanz, durchschnittlich 51 % der vorgegebenen Radioaktivität in Leber, Gallenblase, Galle, MDK (mit Inhalt) und Kot.

Tabelle 10

^{3}H-Elimination in der Fistelgalle nach i.v.-Applikation von 10 mg/kg Pyridium-^{3}H (Hund 9). In Prozent der Eingabe.

Z e i t	additiv
1 Std.	9,1
2 "	22,4
3 "	27,8
4 "	31,2
5 "	34,3
6 "	36,6
7 "	38,3
8 "	40,1
12 "	41,9
24 "	45,2
Mal 1,6	73,3

Die Ausscheidung von Radioaktivität im Urin war erheblich geringer als in der Galle. Sie betrug in 24 Stunden durchschnittlich 22 % (zwischen 20,5 % und 24,7 %) der Eingabe. (Siehe Tab. 11).

Tabelle 11

Ausscheidung von ^{3}H-Radioaktivität im Harn nach i.v.-Injektion von 10 mg/kg Pyridium-^{3}H. Angaben in % der Eingabe, additiv

Z e i t	H 9	H 10	H 11	H 12	H 13
1 Std.	2,13	2,58	1,35	0,63	
2 "	3,76	4,80	3,51	3,66	
3 "	4,99	5,70	5,44	9,80	
4 "	6,21	6,31	6,89	11,12	
5 "	6,54	7,06	8,54	11,73	
6 "	7,42	8,16	9,84	12,37	
7 "	7,70	8,85	11,11	13,07	
8 "	8,07	9,60	12,81	13,44	
12 "	9,26	9,77			
24 "	10,21	15,42			12,80
Mal 1,6	16,33	24,72			20,50

In der über 24 Stunden quantitativ aufgefangenen Atemluft wurden 1,3 % der applizierten Dosis wiedergefunden. Diese Untersuchung wurde an einem Tier durchgeführt (Hund 13).

Die Verteilung der Substanz im Körper der Versuchstiere wurde 8 und 24 Stunden nach Applikation untersucht. Die Konzentration in den verschiedenen Organen war untereinander vergleichbar, mit Ausnahme von Schilddrüse, Gallenblase, Leber und MDK-Organe, die mit Ausnahme der Schilddrüse als Ausscheidungsorgane charakterisiert sind. In den genannten Organen war die spezifische Aktivität höher als in den restlichen Organen. Im Verlaufe der Zeit wurde keine Aenderung des Verteilungsschemas beobachtet. Die Konzentrationen erniedrigten sich entsprechend der Elimination in der Zeit von der 8. zur 24. Stunde. (Siehe Tabellen 12 und 13).

Tabelle 12

^{3}H-Wiederfindung in den Organen von Hunden 8 Stunden nach i.v.-Injektion von 10 mg/kg Pyridium-^{3}H. In % der Eingabe pro Gesamtorgan und pro 100 g Organfeuchtgewicht

Organe	Hund 7 (8 Std.)			Hund 8 (14 Std.)		
	Feucht-gewicht in g	Prozent der Eingabe im Organ	% d.E. in 100 g Feuchtg.	Feucht-gewicht in g	Prozent der Eingabe im Organ	% d.E. in 100 g Feuchtg.
Haut	11,17/1300	0,023/2,68	0,21	9,68/ 900	0,01/1,12	0,12
Netz				62,55	0,02	0,12
Gekröse	152,48	0,169	0,11	57,10	0,03	0,05
Nierenfett	27,72	0,023	0,09	40,20	0,02	0,05
Schilddrüse	0,64	0,013	2,03	0,66	0,04	0,61
Nebenniere	1,28	0,005	0,39	1,36	0,003	0,18
Hoden/Ovar	18,63	0,017	0,09	0,69	0,002	0,28
Knochen	6,28/1650	0,008/2,04	0,12	7,72/1125	0,001/0,15	0,01
Pankreas	20,51	0,034	0,17	19,82	0,02	0,10
Gallenblase	2,94	1,850	62,93	1,83	0,79	43,17
Leber	303,90	2,780	0,92	263,62	1,88	0,79
Milz	117,50	0,108	0,09	48,25	0,02	0,04
MDK (m.Inhalt)	508,73	23,430	4,61	492,19	13,42	3,13
Nieren	38,53	0,150	0,39	48,98	0,08	0,16
Harnblase	9,22	0,020	0,22	10,43	0,14	1,34
Lunge	74,92	0,167	0,22	65,55	0,08	0,12
Herz	81,19	0,089	0,11	63,07	0,05	0,08
Hirn	81,02	0,075	0,09	72,25	0,04	0,06
Zwerchfell	60,96	0,071	0,12	36,41	0,03	0,08
Muskel	22,97/4600	0,018/3,16	0,08	47,39/3150	0,02/1,26	0,04
Uterus				4,66	0,003	0,06
Blut	880,00	0,270	0,03	600,00	0,36	0,06
Galle		26,55			24,33	

Tabelle 19

^{3}H-Wiederfindung in den Organen von Hunden 8 Stunden nach i.v.-Injektion von 10 mg/kg Pyridium-^{3}H.
In % der Eingabe pro Gesamtorgan und pro 100 g Feuchtgewicht

Organe	Hund 9			Hund 10			Hund 13		
	Feuchtgewicht in g	Prozent der Eingabe im Organ	% d.E. in 100 g Feuchtg.	Feuchtgewicht in g	Prozent der Eingabe im Organ	% d.E. in 100 g Feuchtg.	Feuchtgewicht in g	Prozent der Eingabe im Organ	% d.E. in 100g Feuchtg
Haut	8,26/1500	0,005/0,908	0,06	32,80/1320	0,099/3970	0,30	6,73/ 900	0,003/0,40	0,04
Netz				41,88	0,044	0,11	40,92	0,01	0,02
Gekröse	188,64	0,433	0,23	212,59	0,372	0,17	37,75	0,01	0,02
Nierenfett	52,84	0,019	0,04	32,64	0,025	0,08	31,12	0,01	0,02
Schilddrüse	0,87	0,005	0,58	0,95	0,093	1,36	0,66	0,01	1,96
Nebenniere	0,60	0,002	0,33	1,54	0,003	0,20	1,95	0,005	0,26
Hoden/Ovar	10,31	0,006	0,06	14,60	0,001	0,07	1,81	0,001	0,06
Knochen	14,05/1875	0,013/1,744	0,09	11,53/1650	0,019/2,640	0,16	12,95/1125	0,001/0,10	0,01
Pankreas	11,79	0,26	0,15	19,06	0,044	0,23	17,39	0,01	0,08
Gallenblase	2,92	0,451	15,45	5,23	1,218	23,29	2,22	1,64	74,01
Leber	453,73	1,483	0,31	340,83	1,221	0,36	218,82	1,27	0,58
Milz	77,85	0,148	0,19	88,75	0,325	0,37	50,49	0,04	0,08
MDK (m.Inh.)	737,06	0,389	0,05	539,96	4,824	0,89	380,49	7,43	1,95
Nieren	68,17	0,060	0,09	58,92	0,140	0,24	50,76	0,06	0,12
Harnblase	15,39	0,025	0,16	10,50	0,002	0,02	9,05	0,02	0,20
Lunge	115,14	0,230	0,20	85,68	0,091	0,11	67,75	0,06	0,09
Herz	100,84	0,036	0,04	68,07	0,069	0,10	67,49	0,08	0,12
Hirn	74,18	0,030	0,04	87,80	0,014	0,02	57,05	0,03	0,05
Zwerchfell	60,12	0,024	0,04	77,24	0,074	0,10	53,45	0,05	0,10
Muskel	57,91/5250	0,011/0,997	0,20	52,79/4600	0,025/2,170	0,05	39,83/3150	0,03/2,52	0,10
Blut	800,00	0,152	0,02	880,00	0,880	0,10	600,00	0,19	0,03
Galle		45,200			26,550			19,670	
Kot		0,856							
Uterus							19,19	0,01	0,05

4. Simulierung der Kinetik von Redul und Durenat im Analogcomputer

4.1. Modellentwurf

Die Verteilung eines Pharmakons im Organismus folgt biochemischen und physikalisch-chemischen Gesetzmässigkeiten, wobei verschiedene Mechanismen stets gleichzeitig ineinandergreifen.

Diese komplexen Systeme sind mathematisch nur sehr schwer zu lösen. Mit Hilfe eines Analogcomputers wird dieses Vorgehen unter bestimmten Umständen erleichtert. GARRET und DOST haben die Lösung entsprechender Probleme durch Simulierung von Modellvorstellungen ermöglicht, wobei durch die modellhafte Umformung eine starke Vereinfachung der biologischen Geschehnisse resultiert. Es ist sogar so, daß zur Simulierung das einfachste der möglichen Modelle verwandt wird.

Voraussetzung für die Anwendung eines Analogcomputers ist die Existenz mathematisch formulierbarer Modelle für zeitabhängige Vorgänge, die einer erheblichen Variabilität unterworfen sind.

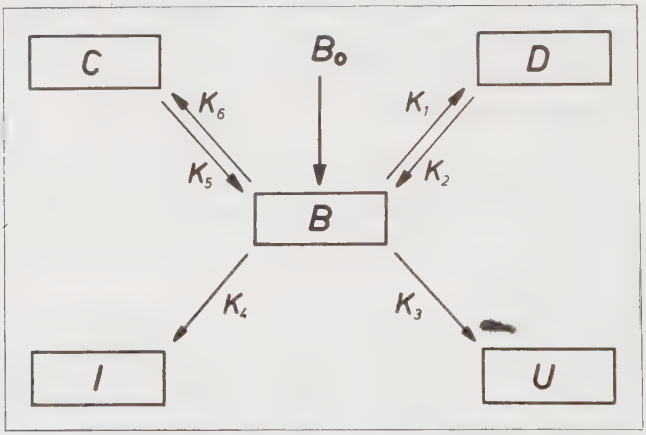
Das zur Beschreibung der Pharmakokinetik notwendige biologische Modell kann, um der Fragestellung zu entsprechen, nur den Uebergang der Verbindung vom Blut in das Gewebe und die Elimination über die Ausscheidungswege Kot und Urin berücksichtigen. Damit werden die geschwindigkeitsbestimmenden Reaktionen erfaßt.

Nach der Erstellung des kinetischen Modells erfolgt die Programmierung des Analogcomputers. Die im simulierten Modell vorhandenen Kompartimente werden im Computer von elektronischen Bauelementen, Integratoren, repräsentiert. Die biologischen Daten bzw. Abläufe werden als elektrische

Spannungen eingegeben und aufgrund der elektrodynamischen Gesetzmäßigkeiten analog dem biologischen Modell variiert. Die Datenausgabe erfolgt in Zeitkurven, welche die Geschwindigkeitskonstanten (k_x) errechnen lassen.

4.2. Durchführung der Simulierung[+)]

Für die Analogcomputersimulierung von Glycodiazin und Sulfamethoxydiazin wurde das folgende biologische Modell zugrundegelegt [++)]:



[+)] Die Simulierung wurde von Herrn J.Riemann, Abteilung Verfahrenstechnik im Hauptlaboratorim der Schering AG durchgeführt.

[++)] Die Simulierung von Phenazopyridin konnte nicht durchgeführt werden. Es ist eine Grundvoraussetzung für die Simulierung, daß die Summe der in den verschiedenen Kompartimenten enthaltenen Substanzmengen zu jeder Zeit 100 % ergeben. Für Phenazopyridin war dies, wie oben beschrieben, aus methodischen Gründen nicht der Fall.

B, U, I, D und C veranschaulichen die in den Kompartimenten Blut, Urin, Intestinum (Gallenblase, MDK und deren Inhalt), sowie die in zwei nicht näher bezeichneten Körperkompartimenten vorhandenen Mengen an Versuchssubstanz. Dabei wird angenommen, daß C die Substanzmenge in dem Körperkompartiment mit raschem, D diejenige im Körperkompartiment mit langsamem Austausch mit dem Blut darstellt.

K_1 und K_6 sind die die Geschwindigkeit des Substanzwechsels charakterisierenden Konstanten. Dabei ist die Größe der K-Werte den Geschwindigkeiten direkt proportional.

Die Postulierung von zwei Körperkompartimenten ergab sich, weil sich mit dem einfacheren Modell mit nur einem Körperkompartiment die durch den Computer gelieferten Kurven nicht zu der geforderten Uebereinstimmung mit den durch das Experiment erhaltenen bringen ließen.

Die Beziehungen zwischen den einzelnen Kompartimenten lassen sich durch die folgenden Differentialgleichungen ausdrücken:

$$\frac{d\,B}{d\,t} = K_2\ D + K_6\ C - (K_1 + K_3 + K_4 + K_5)\ B$$

$$\frac{d\,D}{d\,t} = K_1\ B - K_2\ D$$

$$\frac{d\,C}{d\,t} = K_5\ B - K_6\ C$$

$$\frac{d\,U}{d\,t} = K_3\ B$$

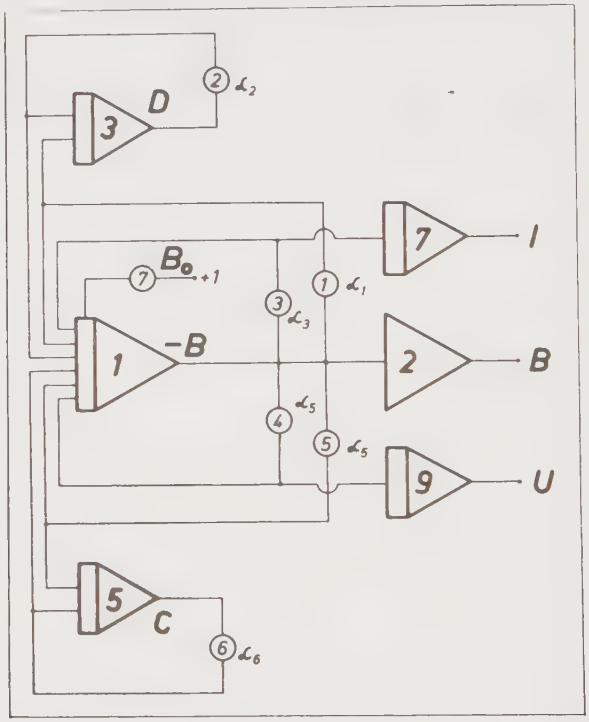
$$\frac{d\,I}{d\,t} = K_4\ B$$

Dabei bedeutet:

B die jeweils im Blut befindliche Substanzmenge,
D die Substanzmenge im Körperkompartiment mit langsamer Wechselwirkung zum Blut,
C die Substanzmenge mit Körperkompartiment mit schnellem Wechsel mit dem Blut,
U die kumulative Menge an Versuchssubstanz, die im Harn ausgeschieden wurde,
I die kumulative Gallenausscheidungsmenge plus die in Gallenblase und MDK zum Zeitpunkt der Aufarbeitung befindliche Substanzmenge.
B_o ist die Gesamtmenge die Eingabe, also 100 %.

Da die Versuchsergebnisse als Prozente der Eingabe vorlagen, die erhaltenen Werte sich also nur zwischen 0 und 100 bewegten, war eine besondere Umrechnung dieser Werte für den Computer, bei dem die Maximalspannung 10 V war, nicht notwendig. Die Zeit wurde gerafft, wobei eine Stunde Echtzeit einer Sekunde Maschinenzeit entsprach (Faktor 1:3600).

Für das entworfene Modell gilt folgendes Computer-Schaltbild:



Zur Adaptation wurden die simulierten Kurven der Blutspiegel und der kumulativen Harn- und Gallenausscheidung verwandt, wobei bei der Galleneliminination teilweise nur ein Meßpunkt, der zum Zeitpunkt der Tötung der Tiere, zur Verfügung stand.

Im Einzelnen konnten bei der Gallenausscheidung zur Simulierung erhalten werden:

V_1	1 Meßpunkt	bei 8 Stunden	(Galle und MDK bei Tötung)
V_2	Zeitkurve	bis 24 Stunden	(Gallenfistel)
V_5	Zeitkurve	bis 24 Stunden	(Gallenfistel)
V_6	1 Meßpunkt	bei 48 Stunden	(Galle, MDK und Kot)
V_7	1 Meßpunkt	bei 8 Stunden	(Galle und MDK)
V_8	1 Meßpunkt	bei 14 Stunden	(kumulative Gallenelimination, Gallenblase und MDK)

Bei V_8 lagen zwar die kontinuierlichen Werte der Gallenelimination vor, des Vergleiches zu V_6 und V_7 wegen wurden jedoch nur die Summen verwandt.

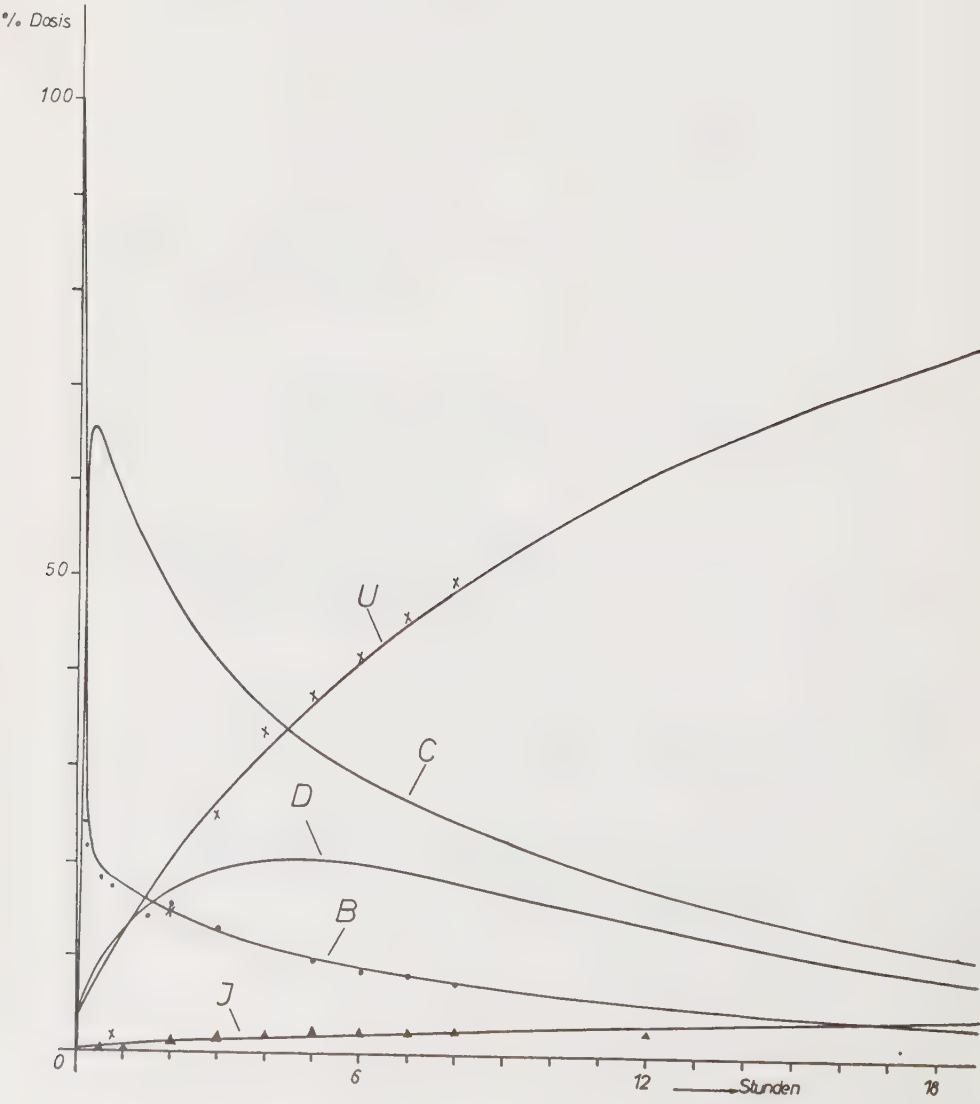
An diese, durch die Experimente gelieferten Kurven, wurden die auf dem Oszilloskop des Computers erscheinenden Kurven durch Variation der Einstellung an den Potentiometern 1 - 6 angeglichen.

4.3. Ergebnisse der Simulierung

Als Beispiele für die Angleichung der simulierten Kurven an die Meßwerte sollen die beiden folgenden Abbildungen dienen.
(Simulierung für Hund 2 - Redul und Hund 7 - Durenat)

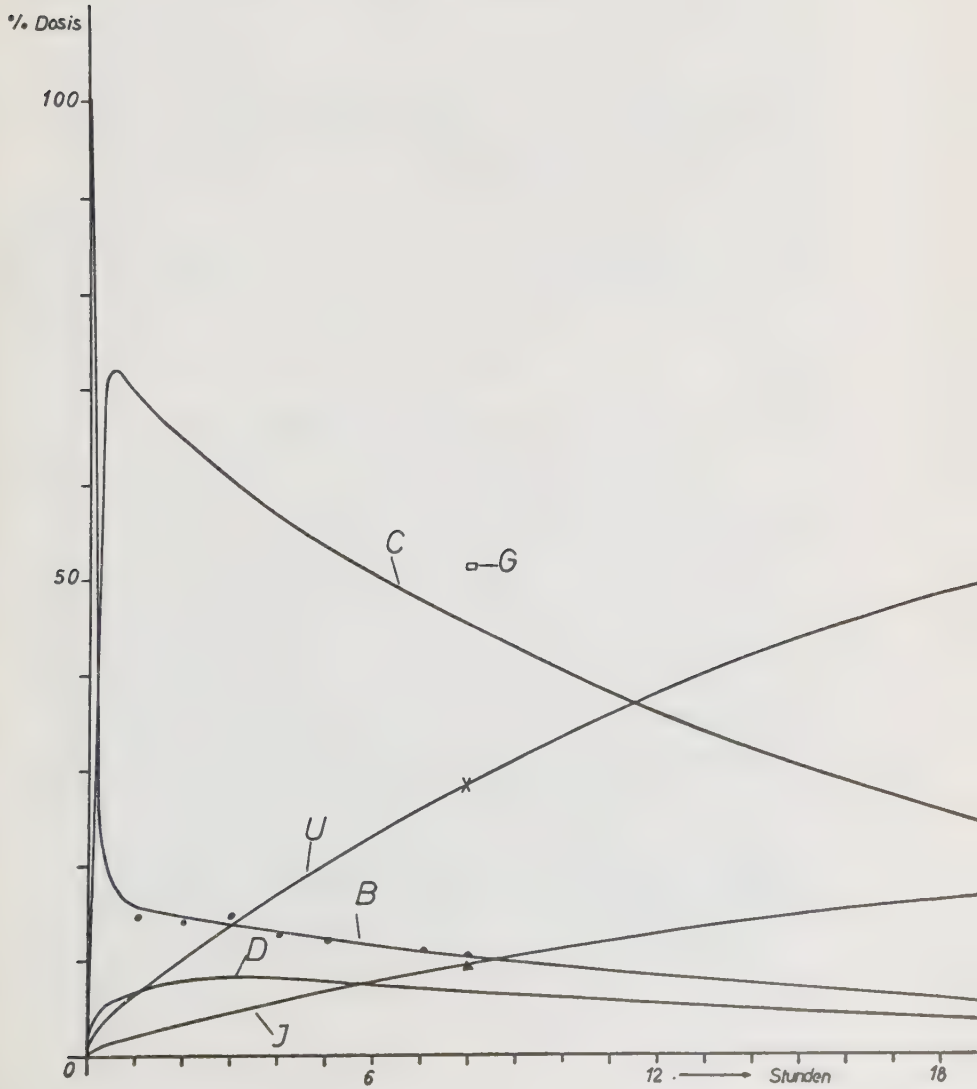
Meßpunkte und simulierte Kurven
zum Versuch Nr. 2:

Hund, ^{3}H-Redul, 10 mg/kg, 400 µc, i.v.



Meßpunkte und simulierte Kurven
zum Versuch Nr. 7:

Hund, ^{35}S-Durenat, 10 mg/kg, 200 µc, i.v.



Die bei der Simulierung von Verteilung und Elimination von Redul und Durenat erhaltenen Geschwindigkeitskonstanten sind in der folgenden Tabelle enthalten. (Siehe Tabelle 14).

Tabelle 14

Geschwindigkeitskonstanten des Substanzübertrittes zwischen den Kompartimenten eines sich bei Verteilung und Elimination von Redul und Durenat ergebenden kinetischen Modells. Dimension (Stunden^{-1}).

Pharmakon	Vers.-Nr.	K_1	K_2	K_3	K_4	K_5	K_6
Redul	V_1	0,59	0,29	0,68	0,15	7,60	2,25
	V_2	0,58	0,30	0,47	0,03	8,59	2,78
	V_5	0,58	0,30	0,42	0,07	7,03	1,60
Durenat	V_6	0,45	0,10	0,41	0,05	5,79	2,42
	V_7	0,42	0,07	0,25	0,09	7,21	1,71
	V_8	0,84	0,09	0,27	0,08	7,40	1,55

Die Geschwindigkeitskonstanten bei der Pharmakokinetik des Glycodiazin ließen erkennen, daß die größten K-Werte den Uebergang der Substanz in ein Körperkompartiment beschreiben: die nächsthohe Geschwindigkeitskonstante bezeichnet den Rückfluß aus diesen Geweben zum Blut. Daneben existiert ein weiteres Gewebekompartiment, welches bezüglich des Ueberganges und Rücktritts von Substanz aus dem Blut bzw. in das Blut zurück eine etwa 10 mal kleinere Geschwindigkeit zeigt.

Die Elimination wird durch die K_4-Werte (Galle bzw. Intestinum) und K_3-Werte charakterisiert (K_3 = Urin). K_3 ist gegenüber K_4 um den Faktor 4 bis 15 größer.

Die Daten für die Geschwindigkeitskonstanten der Kinetik von Sulfamethoxydiazin zeigten gleichfalls den größten Wert bei K_5, dem den Substanzabfluß aus dem Blut in ein nicht näher bezeichnetes Gewebekompartiment beschreibenden Faktor. Die nächsthohe Konstante charakterisiert den Substanzrückfluß aus diesem Kompartiment zum Blut. - Analog zum Redul war die Reaktionsgeschwindigkeit zwischen dem Blut und dem zweiten Gewebekompartiment für beide Wege um den Faktor 10 geringer. Die erhaltenen K_3 und K_4-Werte (Elimination über Urin und Galle) zeigten, daß K_3 (Urin) zwischen 8 und 3 mal größer war als K_4 (Galle).

Aus den Geschwindigkeitskonstanten und den in den Abbildungen veranschaulichten Gewebespiegeln wird deutlich, daß beide Substanzen rasch in die Gewebekompartimente übergehen und Maximalwerte der Gewebeverteilung für Glycodiazin schon nach 20 Minuten und für Sulfamethoxydiazin nach 30 Minuten erreicht werden. Die Maximalkonzentration in den Geweben mit langsamerer An- und Abflutung war bei Glycodiazin nach 4 Stunden und bei Sulfamethoxydiazin nach etwa 3 Stunden erreicht. Aus experimenteller Durchführung und biologischem Modell ließ sich eine Zuordnung bestimmter Organe zu den beiden Gewebekompartimenten nicht erbringen.

Die bei der Computersimulierung erhaltenen Summen der Substanzmengen in den zwei verschiedenen Gewebekompartimenten stimmte in den untersuchten Fällen mit der bei der Verteilung erhaltenen Wiederfindungsmenge im Körper überein.

5. Diskussion

5.1. Glycodiazin

Der nach intravenöser Injektion des Glycodiazin beobachtete rasche Abfall der erhaltenen Blutspiegel, der etwa 15 Minuten nach Injektionsende deutlich langsamer wird, ist dahingehend zu deuten, daß bis zu diesem Zeitpunkt die Invasion der Substanz in das Gewebe stattfindet. Der anschließend erfolgende, langsamere Abfall des Blutspiegels ist nur noch auf die Elimination zurückzuführen, deren Maß der jeweils im Körper befindlichen Substanzmenge proportional ist - DOST, 1953, wobei selbstverständlich der Abstrom der Substanz aus dem Körper sofort nach Injektion beginnt.

Aus den von uns erhaltenen Verteilungsvolumina nach DOST (zwischen 0,45 ml/g und 0,75 ml/g) ist zu ersehen, daß das Schwergewicht der Verteilung stets auf der Seite des Blutes lag. Bei entsprechenden Versuchen von GERHARDS et al. (1964) am Menschen wurde ein rel. Verteilungsvolumen nach DOST von 0,26 ml/g erhalten.

Bei der Elimination der Substanz zeichnete sich als Hauptweg der Harntrakt ab. Hier fanden sich nach 8 Stunden bereits 50,8 % bzw. 54 % und nach 24 Stunden 79 % der eingegebenen Radioaktivität. KOLB et al. (1964) erhielten im Harn der Ratte, 24 Stunden nach oraler und i.v.-Applikation, 90 % und von GERHARDS et al. (1964) ließen sich beim Menschen 12 Stunden nach peroraler Gabe zwischen 23,9 % und 46,9 % und 24 Stunden nach Applikation p.o. zwischen 56,8 % und 87,1 % der eingegebenen Substanz im Harn nachweisen. Diese Werte zeigten also bei den untersuchten Spezies Uebereinstimmung.

Es soll an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß von der im Urin nachgewiesenen Glycodiazin-Radioaktivität nur ein sehr geringer Anteil (weniger als 1 %) aus unveränderter Substanz besteht.

Die Hauptmenge der im Harn enthaltenen Glycodiazin-^{3}H-Aktivität entfällt mit 20 - 40 % auf Metabolit I - 2-Benzolsulfonamido-5-(β-hydroxy-äthoxy)-pyrimidin - und mit 60 - 80 % auf Metabolit II 2-Benzolsulfonamido-5-(β-carboxy-methoxy)-pyrimidin .

Eine Erklärung für diese Tatsache ist darin zu sehen, daß Glycodiazin als sehr gute lipoidlösliche Substanz rasch aus den Tubuli in das Blut zurückdiffundiert. Es bildet sich ein Diffusionsgleichgewicht zwischen Blut und Urin aus. Die Ausscheidung von unverändertem Glycodiazin erfolgt also lediglich durch Diffusion, wofür spricht, daß Glycodiazin nach Verabfolgung in die arteria renalis durchschnittlich 77 Sekunden eher im Nierenbecken erscheint als gleichzeitig mit ihm injiziertes Inulin, daß rein filtriert wird. Die beiden Metabolite werden dagegen durch Filtration ausgeschieden, (OSSWALD, 1969). Die Ausscheidungsgeschwindigkeit von Glycodiazin ist demnach lediglich von der Schnelligkeit des Molekülumbaues im Organismus abhängig. Wegen der geringen Nierengängigkeit des Glycodiazin und der raschen Ausscheidung seiner Metabolite im Harn ist im Gegensatz zu der Situation im Harn anzunehmen, daß sich im Blut und in den Geweben zum überwiegenden Teil natives Glycodiazin befindet.

Die Ausscheidung der Substanz in der Galle war gering. Nach Anlage einer Gallenfistel wurden in 24 Stunden 4,4 % bzw. 8,7 % der Eingabe in der Fistelgalle erhalten.

Diese Untersuchungen stehen im Einklang mit Ergebnissen von Humanversuchen. Beim Menschen wurden im Kot, der mittelbar einen Aufschluß über die Ausscheidung in

die Galle erlaubt, nach peroraler Anwendung zwischen 5,5 % und 7 % der applizierten Dosis wiedererhalten (GERHARDS et a., 1964).

Die von KOLB et al. (1964) erhaltenen Angaben über die gemessenen Aktivitäten in der Fistelgalle der Ratte (bei oraler Gabe 14 % und bei i.v.-Applikation 21 % der vorgegebenen Aktivität innerhalb von 24 Stunden) sind von ähnlicher Größenordnung.

Der Substanzspiegel im Portalvenenblut war gegenüber dem Blutspiegel in der peripheren Vene unwesentlich erhöht und zwar sowohl bei Verhinderung der Resorption der in die Galle ausgeschiedenen Substanz (durch Drainierung und Abfangen der Galle) als auch bei ungehindertem Gallenfluß. Somit ist die mit der Galle ausgeschiedene und vom Intestinum wiederaufgenommene Menge zu gering, um den Pfortaderblutspiegel meßbar zu erhöhen.

Die Halbwertszeit des Glycodiazin im Blut betrug bei unseren Versuchen, vom Abschluß der Invasion des Körpers gerechnet, 5,5 Stunden. Der für den Menschen nach oraler Gabe errechnete Wert war mit 3,8 Stunden um ein Drittel geringer (GERHARDS et al., 1964).

Die Verteilung von Redul im Gewebe, d.h., in den einzelnen Organen war mit Ausnahme der Ausscheidungsorgane und des Fells größenordnungsmäßig gleich. Als Ausscheidungsorgane sind Leber, Gallenblase und MDK sowie Nieren und Harnblase zu betrachten. Während die Anreicherung in den Ausscheidungsorganen keiner besonderen Erklärung bedarf, ist eine solche für die höhere Konzentration in der Haut notwendig. Gleichwohl ist ein einleuchtender Grund nicht zu finden, da die Konzentration in den Fettgeweben (Nierenfett, Gekröse) nicht vom Durchschnitt abweicht. Bei Untersuchungen von

KOLB et al.,(1964) war beim Hund die Konzentration im Fell nicht untersucht worden. Bei der Ratte war die Anreicherung im Fell nur durchschnittlich. Die anderen Angaben von KOLB bezüglich der Verteilung der Substanz (sowohl bei der Ratte als auch beim Hund) sind mit unseren Ergebnissen durchaus vergleichbar.

5.2. Sulfamethoxydiazin

Auch beim Durenat ergab sich das Bild der raschen Invasion des Organismus - sie war nach etwa 20 Minuten abgeschlossen - mit darauffolgendem, nur mehr durch die Elimination bedingtem Abfall des Blutspiegels.

Das relative Verteilungsvolumen nach DOST betrug beim Sulfamethoxydiazin bei unseren Untersuchungen im Durchschnitt 0,54 ml/g gegenüber von 0,56 ml/g und 0,53 ml/g beim nierenlosen Hund und 0,35 ml/g bei der nierenlosen Ratte - alle Angaben nach i.v.-Injektion - (HECHT et al., 1961). Der von uns erhaltene Wert läßt auf eine gute Verteilung der Substanz im Körper schliessen, wobei das Gleichgewicht der Verteilung nach der Seite des Blutes verschoben ist.

Die von uns gemessene Halbwertszeit im Blut, anschliessend an die erfolgte Invasion gemessen, betrug 7,3 Stunden. Sie war damit erheblich größer als die von den üblichen Sulfonamiden beim Menschen, (Angaben von DOST, 1953).

Die Ausscheidung erfolgte auch beim Sulfamethoxydiazin überwiegend über die Nieren, während die Gallengängigkeit der Substanz sehr gering war.

8 Stunden nach Injektionsende waren Ausscheidungen über die Nieren von 26,8 % und 22,2 % festzustellen. Nach 12 Stunden fanden sich 45,5 %, nach 24 Stunden 69,7 % und nach 48 Stunden 81 % der Eingabe im Harn wieder.

Demgegenüber war die Wiederfindung in der Fistelgalle nach 8 Stunden nur 1,7 % und nach 14 Stunden 2,4 % der applizierten Dosis.

Unsere Ergebnisse stehen in Uebereinstimmung mit Untersuchungen von HECHT et al. (1961).

Die auf gleiche Gewichte bezogenen Aktivitäten in den verschiedenen Organen zeigten, mit Ausnahme des Fettgewebes und der an der Ausscheidung beteiligten Organe, vergleichbare Werte. In den Ausscheidungsorganen (Leber, Gallenblase, MDK sowie Nieren und Harnblase) fand sich eine höhere Konzentration als im Durchschnitt, in den Fettgeweben wurde eine etwas geringere Anreicherung gefunden. Dies könnte man auf den geringeren Eiweißgehalt dieser Gewebe zurückführen, da nach Angaben von KIMBEL und GARN (1961) Sulfamethoxydiazin eine ausgeprägte Eiweißbindung zeigt.

Eine Aenderung im Verteilungsmuster der Substanz im Laufe der Zeit (die Tiere wurden 8, 14 und 48 Stunden nach Applikation getötet und aufgearbeitet) wurde von uns nicht gesehen, insbesondere wurde eine spätere Kumulation in einem bestimmten Organ nicht gefunden.

5.3. Phenazopyridin

Der Blutspiegel nach Injektion von 10 mg/kg Pyridium erreichte keine hohen Werte. Sein Abfall ging langsamer vor sich als bei den vorher untersuchten Substanzen. Ein steady state zwischen Blut und Gewebe hatte sich nach etwa einer Stunde eingestellt.

Für die Halbwertszeit der Substanz im Blut erhielt man, vom Abschluß der Invasion gerechnet, den Wert von 3,5 Stunden. Er weist auf eine schnelle Elimination hin.

Für das relative Verteilungsvolumen nach DOST ergab sich 5,0 ml/g. Mithin lag der Schwerpunkt der Verteilung stets auf der Seite des Gewebes, mit anderen Worten, das Gewebe zeigte eine erhebliche Affinität zu der Substanz.

Der von uns für den Hund erhaltene Eliminationsmodus unterscheidet sich wesentlich von dem bei anderen Spezies. (Mensch, Affe, Ratte). Die diesbezüglichen Angaben stammen aus bisher nicht veröffentlichen Untersuchungen von KOLB.

Während beim Hund nach i.v.-Gabe innerhalb von 24 Stunden nur etwa 20 % der Eingabe im Harn erscheinen, waren es beim Menschen (die Substanz wird seit einigen Jahrzehnten als Harnwegsinfiziens und - anästheticum therapeutisch genutzt) im selben Zeitraum zwischen 39 % und 55 % (nach oraler Applikation). Beim Affen waren nach 24 Stunden zwischen 52 % und 66 %, bei der Ratte zwischen 41 % und 58 % in den Harn ausgeschieden worden (jeweils orale Gabe).

Beim Hund wurden dagegen in der 24-Stunden-Galle (Fistel) 73 % der Dosis wiedergefunden. Auch bei den

Tieren, bei denen keine Gallenfistel angelegt, bei denen aber 8 und 24 Stunden nach Injektion die Verteilung der Substanz im Organismus untersucht wurde, erhielt man in der Gallenblase und im MDK, wohin die Substanz nur über die Galle hingelangt sein kann (wenn man nicht eine aktive Sekretion der Substanz durch die Mucosa annehmen will), durchschnittlich 57 % der Eingabe. Bei anderen Spezies waren Gallenfisteluntersuchungen noch nicht durchgeführt worden, jedoch war die Ausscheidung im Kot (jeweils orale Applikation) beim Menschen zwischen 13,6 % und 29,3 % (7 bis 14 Tage nach Applikation), beim Affen 14,4 % (4 Tage nach der Gabe des Pyridium) und bei Ratten zwischen 7,4 % und 20 % (2 bzw. 5 Tage nach Anwendung). Da in diesen Werten eventuell nicht resorbierte Mengen von Substanz mit enthalten sind, wird deutlich, daß die Gallengängigkeit hier jeweils erheblich geringer ist als beim Hund.

Die von uns erhaltenen Anteile von ^{3}HOH an der wiedergefundenen Aktivität waren mit etwa 37 % sehr hoch. Auch bei den von KOLB durchgeführten Untersuchungen war der ^{3}HOH-Anteil an der Aktivität des Harnes (gemessen an der Differenz zwischen der Aktivität des gefriergetrockneten und auf sein Ursprungsvolumen aufgefüllten Harnes und des direkt gemessenen Harnes) hoch. Er lag beim Menschen zwischen 28 % und 36 %, beim Affen bei 13 % und bei der Ratte zwischen 33 % und 42 % der Harn-Gesamtaktivität.

Ebenso wie diese hohen ^{3}HOH-Anteile an der Harnaktivität läßt die Abatmung der im Pyridium enthaltenen Radioaktivität - beim Affen innerhalb von 24 Stunden 0,7 %, bei der Ratte im gleichen Zeitraum 5,4 % (KOLB) und beim Hund nach 24 Stunden 1,3 % - entweder auf einen raschen Abbau des Pharmakon im Organismus schließen oder auf einen ausgeprägten Austausch des ^{3}H des Pyridinringes gegen Gewebewasser, da Pyridium selbst nicht in der Ausatmungsluft erscheint.

Trotz der hohen Ausscheidung des P. in der Galle kam es bei unseren Versuchen nicht zu einer Erhöhung des Substanzspiegels im Pfortaderblut gegenüber dem in der peripheren Vene. Offenbar ist dazu eine massive Resorption innerhalb kurzer Zeit notwendig, welche trotz der im vorliegenden Fall hohen Gallenausscheidung nicht erreicht wird.

Bei der Verteilungsuntersuchung des Pyridiums ergab sich ein ähnliches Bild wie bei den vorher untersuchten Substanzen. Es fand sich nur in den an der Ausscheidung beteiligten Organen eine höhere Gewebekonzentration, wobei sich dieses Verteilungsmuster innerhalb von 16 Stunden nicht änderte. Die Konzentration in den Fettgeweben entsprach dem Durchschnitt.

5.4. Computersimulierung

Als Ergebnisse der Computersimulierung liegen erstens Kurven vor, die die Substanzmengen in den verschiedenen Körperkompartimenten in Abhängigkeit von der nach der Applikation verstrichenen Zeit angeben. Zweitens erhält man Geschwindigkeitskonstanten, die die Substanzbewegungen zwischen den im Modell enthaltenen Kompartimenten charakterisieren. Dabei ist von besonderer Bedeutung, daß die Geschwindigkeitskonstanten der Kinetik zwischen Blut und den Ausscheidungskompartimenten (Urin, Galle evtl. Lunge) anstelle von Clearance-Werten benutzt werden können.

Wenn wir jetzt Bilanz ziehen, um zu sehen, welche Vorteile diese zusätzliche, mit einigen personellen und apparativen Aufwand verbundene Methode bietet, so

wäre in erster Linie die Tatsache zu nennen, daß man durch die Weiterverarbeitung von Befunden, die man bei pharmakodynamischen Untersuchungen üblicherweise erhält, zu Erkenntnissen über die Verteilung einer Substanz im Körper über einen gewissen Zeitraum kommen kann. Das ist insofern bemerkenswert, als diese Ergebnisse auf direktem Wege, d.h. durch Untersuchungen, nicht oder nur sehr schwer, unter erheblichem Aufwand erhalten werden könnten. Es wäre dazu notwendig, bei jeder pharmakokinetischen Untersuchung eines Pharmakon eine große Anzahl von Versuchstieren zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Applikation zu töten und die Substanzmenge im Organismus zu bestimmen. Andererseits ist die Kenntnis über die zeitliche Verteilung eines Arzneimittels eine unbedingte Voraussetzung für seine Anwendung, insbesondere die Dosierung. Bis zur Entwicklung der hier beschriebenen neuen Methode war man in einem solchen Falle auf die Bestimmung der Blutspiegel angewiesen, welche gegebenenfalls eine Korrelation zu den in den Geweben vorhandenen Anteilen an Substanz vermissen ließen. Ein Beispiel ist der Fall, in dem eine besonders hohe Eiweißbindung der Substanz vorliegt. Hier können nämlich hohe Blut- und Plasmaspiegel mit niedrigen Gewebespiegeln einhergehen.

Ungenügend ist die Methode insofern, als aus den erhaltenen Kurven für die Gewebekompartimente eine Zuordnung bestimmter Organe zu diesen verschiedenen Kompartimenten nicht erhalten werden kann. In dem vorliegenden Fall z.B., bei dem sich anhand der Simulierung zwei Gewebekompartimente mit unterschiedlicher An- und Abflutung an Substanz ergaben, ist nicht zu erkennen, welche Zuordnung besteht. Hier wäre durch Verteilungsuntersuchungen zu erforschen, ob sich eine gleichmäßige, eventuell zeitlich veränderliche Affinität der Organe zu der Substanz ergibt.

Ein weiterer Vorteil der Computersimulierung:

Sind durch grundlegende Tierversuche die zur Simulierung notwendigen Parameter gewonnen, so sind, anschließend an die Erstellung des biologischen Modells, den Variationen des Versuches im Computer keine Grenzen gesetzt. Insbesondere besteht die Möglichkeit, bei einem erwünschten Gewebespiegel der Substanz, die optimale Dosierung in bezug auf Substanzmenge pro Anwendung bzw. das Dosisintervall zu eruieren. Ebenso ist die Frage nach einer eventuell einsetzenden Kumulation auf diese Weise zu beantworten. Es sollte an dieser Stelle noch einmal erwähnt werden, daß bei der Erstellung des Modells eine Kontrolle darüber möglich ist, ob dasselbe im vorliegenden Falle gültig ist oder nicht. In dem Falle nämlich, in dem ein unrichtiges Modell zur Grundlage der Simulierung gemacht wurde, werden sich die Blut- und Ausscheidungskurven, die der Computer liefert, nicht mit den durch den Tierversuch erhaltenen zur Deckung bringen lassen.

Wie oben bereits erwähnt, stimmen die Substanzmengen in den beiden hypothetischen Körperkompartimenten, die von der vom Computer gelieferten Kurven abzulesen sind, mit der bei der Verteilung der Tiere erhaltenen Wiederfindungsmenge im Körper überein.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird die Pharmakokinetik von Glycodiazin, Sulfamethoxydiazin und Pyridium nach intravenöser Applikation am Hund beschrieben.

1. Es stellte sich heraus, daß Glycodiazin und Sulfamethoxydiazin hauptsächlich über die Nieren eliminiert werden, während Pyridium vorzugsweise mit der Galle ausgeschieden wurde.

2. Die Halbwertszeit der Substanzen im Blut betrug, vom Abschluß der Invasion der Substanz im Körper an gerechnet, 5,5 Stunden (Glycodiazin), 7,3 Stunden (Sulfamethoxydiazin) und 3,5 Stunden (Pyridium).

3. Für das relative Verteilungsvolumen nach DOST errechnet sich:

Glycodiazin	:	0,55 ml/g
Sulfamethoxydiazin	:	0,54 ml/g
Pyridium	:	5,0 ml/g.

4. Bei der Verteilung der Substanzen ergab sich bei allen Substanzen eine Anreicherung in den an der Ausscheidung beteiligten Organen. Bei Glycodiazin fand sich eine höhere Konzentration als im Durchschnitt in der Haut. Bei Sulfamethoxydiazin war die Substanzkonzentration in den Fettgeweben vermindert. Die Konzentration an Substanz in den übrigen Organen war bei allen untersuchten Substanzen von vergleichbarer Größe.

Aus den experimentellen Untersuchungen mit Glycodiazin und Sulfamethoxydiazin konnte ein kinetisches Modell erstellt werden, welches eine Simulierung der Pharmakokinetik der beiden Substanzen im Analogcomputer zuließ. Als Ergebnis der Simulierung wurden die Gewebespiegel der verabfolgten Pharmaka in Abhängigkeit von der Zeit sowie die die Substanzbewegungen zwischen den im Modell vorhandenen Kompartimenten charakterisierenden Geschwindigkeitskonstanten erhalten.

Eine Computersimulierung der Kinetik von Pyridium ließ sich aus methodischen Gründen nicht durchführen.

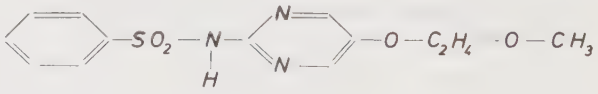
7. Anhang

7.1. Substanzen

7.1.1. Glycodiazin

Glycodiazin ist eine 1964 bei der Suche nach neuen blutzuckersenkenden Substanzen unabhängig voneinander in den Laboratorien von Bayer, Leverkusen und der Schering AG, Berlin synthetisierten Verbindung.

Formelbild:



2-Benzolsulfonamido-5-(β-methoxy-äthoxy)-pyrimidin

Molekulargewicht	:	339
Biologische Wirkung	:	Dosisabhängige Senkung des Blutzuckers.
Nebenwirkungen	:	Vorübergehende Leukopenien, geringe, meist reversible allergische Erscheinungen.
Schicksal im Organismus (Mensch)	:	Demethylierung und anschliessende Oxidation. Kaum Ausscheidung unveränderten Glycodiazins (um 1 %).
1. Metabolit	:	2-Benzolsulfonamido-5-(β-hydroxy-äthoxy)-pyrimidin. Ausscheidung zwischen 20 % und 40 %. Hat ebenfalls blutzuckersenkende Wirkung.

2. Metabolit	:	2-Benzolsulfonamido-5-(β-carboxy-methoxy)-pyrimidin. Ausscheidung zwischen 60 % und 80 %, keine blutzuckersenkende Wirkung mehr.
LD_{50} Ratte	:	Intravenös: 2,00 g/kg Körpergewicht Oral : 2,88 g/kg Körpergewicht. (Verabreicht als Na-Salz-Lösung).

Die Substanz wurde 1964 von GUTSCHE u. BOENICKE, BERINGER u. THALER, LEUBNER, ROBBERS u. BRUMBY sowie TRAUMANN in die Therapie eingeführt. Die Tagesdosis liegt bei 1 bis 2 g pro die.

7.1.2. Sulfamethoxydiazin

Sulfamethoxydiazin wurde 1960 von DIEDERICHS und WOERFFEL unabhängig voneinander in den Laboratorien von Schering, Berlin und Bayer, Leverkusen synthetisiert.

Formelbild:

2-Sulfanilsäureamid-N^1-5-methoxy-pyrimidin

Molekulargewicht	:	280,3
Biologische Wirkung	:	Wirkt bakteriostatisch auf grampositive und gramnegative Bakterien einschließlich E. coli. Minimale Hemmkonzentration: 0,56 µg/ml.
Nebenwirkungen	:	Vorübergehende Leukopenien, allergische Erscheinungen, geringe Blutzuckersenkung.
Schicksal im Organismus (Mensch)	:	Azetylierung und Glukuronidierung. Ausscheidung: 40 % unverändert, 25 % N^4-azetyl-2-sulfonamido-5-methoxy-pyrimidin, 35 % N^4-Glukuronid des 2-Sulfonamido-5-methoxy-pyrimidin. Ein Azetylderivat des Sulfamethoxydiazin kann bei unseren Untersuchungen nicht aufgetreten sein, da der Hund die Fähigkeit zur Azetylierung nicht besitzt.

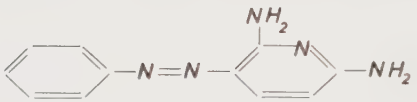
LD_{50} Ratte	:	Intravenös: 1,2 g/kg Körpergewicht. Oral : 1,0 g/kg Körpergewicht, (gelöst als Natriumsalz). Oral : 6,5 g/kg Körpergewicht, (gelöst in Gummi arabicum).

1960 durch BUENGER u. KOCH in die Therapie eingeführt. Die therapeutische Dosis beim Menschen ist 1 g am ersten und 0,5 g an jedem weiteren Tag der Behandlung.

7.1.3. Pyridium

Synthese der Base 1915 durch TSCHITSCHIBABIN und SEIDE, des Hydrochlorids durch OSTROMISLENSKY (1929).

Formelbild:



2.6-Diamino-3-phenylazopyridin

Molekulargewicht	:	213 Rötliches, geruchloses, kristallines Pulver von leicht bitterem Geschmack.
Biologische Wirkung	:	Bakterizid gegenüber Staphylokokken, Streptokokken, Gonokokken, E.coli und Corynebakterium Diphtheriae (COLLINS, 1925), lokalanästhetisch.
Nebenwirkung	:	In üblicher therapeutischer Dosierung keine Nebenwirkungen. Bei hohen Dosen erfolgt Methämoglobinbildung. Rotfärbung des Harnes.
Schicksal im Organismus	:	Untersuchungen bisher nicht durchgeführt. Denkbar wäre wegen der freien Aminogruppe einmal Desaminierung, sowie Glukuronidierung und Azetylierung.

7.2. Literaturverzeichnis

BAUM-ZIETSCHMANN

Anatomie des Hundes
Paul Parey-Verlag, Berlin (1936)

BERNHARD, H.

Orale Behandlung des Diabetes mellitus mit 2-Benzolsulfamyl-5-methoxy-äthoxy-pyrimidin (Glycodiazin).
Arzneimittelforschung 14, 409 (1964)

BROWNELL, G.L., M. BERMAN and J.S. ROBERTSON

Nomenclature for Tracer Kinetics.
International Journal of Applied Radiation and Isotopes
Vol. 19, 243-262 (1968)

BUENGER, P., und G. KOCH

Klinische Untersuchungen mit 2-Sulfanilamido-5-methoxypyrimidin.
Arzneimittelforschung 11, 8:726 (1961)

COLLINS, G.W.

Chemical examination of "Pyridium" and "Mallophene".
Journal of the American Pharmaceutical Association
20, 455-462 (1931)

DOST, F.H.

Was ist Pharmakokinetik.
Deutsche Medizinische Wochenschrift 92, 264-268 (1967)

DOST, F.H.

Der Blutspiegel.
Georg Thieme-Verlag, Leipzig (1953)

DOST, F.H.

Grundlagen der Pharmakokinetik, 2. erweiterte und umgearbeitete Auflage.
Georg Thieme-Verlag, Stuttgart (1968)

DOST, F.H. und R. REPGES

Zur Beschreibung der Pharmakokinetik der Bromsulfalein-Ausscheidung unter Verwendung eines Analogcomputers.
Pharmacologica Clinica, 1, 1-7 (1968)

DUGGAN, D.E. and ELLWOOD O. TITUS

The use of radioactive isotopes for pharmacological research.
Aus: Künstliche radioaktive Isotope in Physiologie, Diagnostik und Therapie. Band II Springer-Verlag Berlin (1961)

GARRET, E.R.; THOMAS, R.C.; WALLACH, D.P. and ALWAY, C.D.

Psicofuranine kinetics and mechanisms in vivo with the application of the analog computer.
Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 130, 106-118 (1960)

GARRET, E.R. and J.S. GRAVENSTEIN

Pharmakokinetik models and their use in clinical investigation.

GARRET, E.R.; JOHNSTON, R.L. and COLLINS, E.J.

Kinetics of steroid effects and ^{47}Ca dynamics in dogs with the analog computer (I).
Journal of Pharmaceutical Science, 51, 1050-1057 (1962)

GARRET, E.R.; JOHNSTON, R.L. and COLLINS, E.J.

Kinetics of steroid effects in dogs with the analog computer (II).
Journal of Pharmaceutical Science, 52, 668 (1963)

GARRET, E.R.

The Application of Analog Computers to Problems of Pharmacokinetics and Drug Dosage.
Antibiotica et Chemotherapia, 12, 227-242 (1964)

GERHARDS, E.; H. GIBIAN und K.H. KOLB

2-Benzolsulfonamido-5-(p-methoxy-äthoxy)-pyrimidin (Glycodiazin), eine neue blutzuckersenkende Substanz; I. Der Stoffwechsel von Glycodiazin beim Menschen.
Arzneimittelforschung, 14, 5:394 (1964).

GERHARDS, E. und K.H. KOLB

2-Benzolsulfonamido-5-(β-methoxy-äthoxy)-pyrimidin. II. Der Stoffwechsel von 2-Benzolsulfonamido-5β-hydroxy-äthoxy-pyrimidin, einem blutzuckersenkenden Metaboliten des Glycodiazin, beim Menschen.
Arzneimittelforschung, 15, 1375-1379 (1965)

GILOI, W. und R. LAUBER

Analogrechnen, Programmierung, Arbeitsweise und Anwendung des elektronischen Analogrechners.
Springer-Verlag, Berlin (1963)

GUTSCHE, H. und G. BOENICKE

2-Benzolsulfonamido-5-(β-methoxy-äthoxy)-pyrimidin (Glycodiazin), ein neues orales Antidiabeticum.
Arzneimittelforschung, 14, 409 (1964)

GUTSCHE, K.; A. HARWART; H. HORSTMANN; H. PRIEWE, G. RASPE; E. SCHRAUFSTATTER; S. WIRTZ und U. WOERFFEL

Sulfonamidopyrimidine, eine neue Gruppe blutzuckersenkender Pharmaka.
Arzneimittelforschung, 14, 373-376 (1964)

HECHT, G.; J.E. CHRISTIAN and G.S. BANKER

In vivo Pharmacodynamik Evaluation for oral Dosage Form by Whole Body Liquid Scintillometry.
Journal of Pharmaceutical Science, 55, 671-684 (1966)

HECHT, G.; K. JUNKMANN; H. LANGECKER; CH. GLOXHUBER; A. HARWART und S. WIRTZ

Pharmakologie des 2-Sulfanilamido-5-methoxy-äthoxy-pyrimidins.
Arzneimittelforschung, 11, 695-700 (1961)

HEVESY, G. und E. HOFER

Der Austausch von Wasser im Fischkörper.
Hoppe-Seylers Zeitschrift physiol.Chem. 225, 28-34 (1934)

HEVESY, G.

The application of Radioactive indicators in Biochemistry.
J.chem.Soc., 1618-1639 (1951)

KALBERER, F. und J. RUTSCHMANN

Eine Schnellmethode zur Bestimmung von Tritium, Radiokohlenstoff und Radioschwefel in beliebigem organischem Probenmaterial mittels des Flüssigkeits-Scintillationszählers.
Helvetica Chimica Acta, 44, 1956-1966 (1961)

KIMBEL, K.H. und F.W. GARN

Verbleib und Ausscheidung von Depot-Sulfonamiden.
Arzneimittelforschung, 11, 721 (1961)

KOLB, K.H.; M. KRAMER und P.E. SCHULZE

Resorption, Verteilung und Ausscheidung von radioaktiv markiertem 2-Benzolsulfonamido-5-(β-methoxy-äthoxy-pyrimidin (Glycodiazin) im Tierversuch.
Arzneimittelforschung, 14, 385-389 (1964)

LEUBNER, H.

Bericht über die klinische Prüfung des 2-Benzolsulfonamido-5-(β-methoxy-äthoxy)-pyrimidin, eines neuen oralen Antidiabeticums.
Arzneimittelforschung, 14, 405 (1964)

MACKAY, D.

The Mathematics of Drug-Receptor-Interactions.
J.Pharm.Phamac., 18, 201-222 (1966)

MILLER, CHRISTENSEN, ABBOT

Anatomy of the Dog.
Sounders, Philadelphia and London (1964).

OSSWALD, H.

Renale Elimination des Antidiabetikums Glycodiazin und seiner Metabolite.
Inaug. Diss. Berlin, 1969

RIEMANN, J.; H. ROEPKE; E. GERHARDS; K.H. KOLB und H. GIBIAN

Simulierung der Biodynamik von Glycodiazin mit dem Analogcomputer.
Arzneimittelforschung, 18, 1443-1445 (1968)

ROEPKE, H.; J. RIEMANN

Computersimulierung in Biologie und Technik - eine Einführung.
Springer, (1969)

ROBBERS, H.; H. BRUMBY und K.J. TRAUMANN

Zur Therapie des Diabetes mellitus mit 2-Benzolsulfonamido-5-(β-methoxy-äthoxy)-pyrimidin. (Glycodiazin)
Arzneimittelforschung, 14, 407 (1964)

SCHOENIGER, W.

Eine mikroanalytische Schnellbestimmung von Halogen in organischen Substanzen.
Mikrochimica Acta, 1, 123-129 (1955)

SEGRE, G.

Compartmental Analysis of Labelled Drug Kinetics
From: L.E. ROTH (Ed.): Isotopes in Experimental Pharmacology.
1965 by the University of Chikago

TSCHITISCHIBABIN und O. SEIDE

Chem. Zentralbl., 86, Bd. II, 1064 (1915)

WALTON, R. and E.H. LAWSON

Pharmacology and Toxicology of the Azo Dye, Phenylazo-alpha-alpha-diaminopyridine (Pyridium).
J.of Pharm.and expert.Ther., 51, 200-216 (1934)

Ich danke der Schering AG für die entgegenkommende Bereitstellung von Material und Arbeitsplatz.
Herrn Dr. K.H. Kolb bin ich für seinen freundlichen Rat sehr verbunden. Ebenso danke ich den Mitarbeitern der Radioisotopenabteilung der Schering AG, insbesondere Herrn Kühne für die Mithilfe bei der Einarbeitung in verschiedene Methoden.

Lebenslauf

Am 30. September 1941 wurde ich, Willy, Justus, Kurt, Uwe B a e r, als viertes Kind des Studienrates Heinz B a e r und seiner Ehefrau Maria, geb. Ludwig, in Zwickau/Sachsen geboren. 1948 wurde ich in Werdau/Sachsen eingeschult. Ich besuchte die Grundschule in Werdau bis zum Jahre 1955. Danach wechselte ich, da mir ein Besuch der Oberschule in der DDR verwehrt wurde, auf die Hans-Carossa-Schule in Berlin-Spandau über. Hier bestand ich im Frühjahr 1961 mein Abitur.

Im Sommersemester 1961 begann ich mit dem Medizinstudium an der Freien Universität Berlin. Hier bestand ich 1963 das Physikum und 1967 das medizinische Staatsexamen.

Seit dem 1. Mai 1969 arbeite ich als Assistenzarzt an der 1. inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses in Berlin-Spandau.

Die vorliegende Arbeit fertigte ich in der Zeit von März bis Dezember 1968 im Hauptlaboratorium der Schering AG an.